

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開2001-114761

(P 2 0 0 1 - 1 1 4 7 6 1 A)

(43) 公開日 平成13年 4 月24日 (2001. 4. 24)

(51) Int. Cl. ⁷	識別記号	F I	テーマコード (参考)
C07D209/20		C07D209/20	
A61K 31/496		A61K 31/496	
38/00		A61P 5/02	
38/27		5/06	
A61P 5/02		5/48	
審査請求 有 請求項の数19 O L (全40頁) 最終頁に続く			

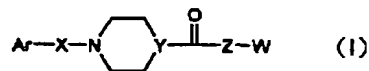
(21) 出願番号	特願2000-262773 (P 2000-262773)	(71) 出願人	397067152 ファイザー・プロダクツ・インク アメリカ合衆国コネチカット州グロトン市 イースタン・ポイント・ロード
(22) 出願日	平成12年 8 月31日 (2000. 8. 31)	(72) 発明者	ブルース アレン ヘイ アメリカ合衆国 06340 コネチカット州 グロトン市 イースタン・ポイント・ロ ード (番地なし) ファイザー・セント ラル・リサーチ内
(31) 優先権主張番号	6 0 / 1 5 1 8 3 0	(74) 代理人	100092783 弁理士 小林 浩
(32) 優先日	平成11年 9 月 1 日 (1999. 9. 1)		
(33) 優先権主張国	米国 (U S)		
		最終頁に続く	

(54) 【発明の名称】 S S Tサブタイプ2レセプターにおいて作用するソマトスタチンアンタゴニスト及びアゴニスト

(57) 【要約】 (修正有)

【課題】 S S Tサブタイプ2レセプターにおいて作用するソマトスタチンアンタゴニスト及びアゴニスト、並びにその医薬組成物を提供する。

【解決手段】 式 (I) :



で表される化合物 [式中、A r は、場合により置換されていることがある、(C₆-C₁₀.) アリール基又は (C₁-C₆.) ヘテロアリール基であり; X は、直接結合、-CH₂-基、-SO₂-基、-CO-基、-CH R¹-基等であり、Y は、窒素原子又はCH基であり; Z は、複素環等である。] 例えば、6-アミノ-2-[2-[(1-ベンゼンスルホニル-ピペリジン-4-カルボニル)-アミノ]-3-(1H-インドール-3-イル)-プロピオニルアミノ]-ヘキサン酸・tert-ブチルエステル。前記化合物は、哺乳動物における成長ホルモン (GH) 分泌の促進に有用である。

1

【特許請求の範囲】

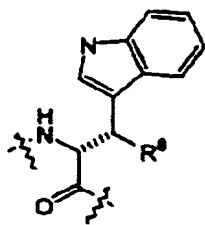
【請求項1】 式(I)：

【化1】



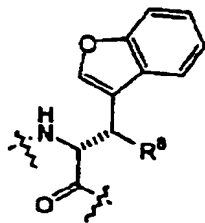
【式中、Arは、場合により置換されていることがある、(C₆-C₁₀)アリール基又は(C₁-C₆)ヘテロアリール基であり；Xは、直接結合、-CH₂-基、-SO₂-基、-CO-基、-CHR¹-基〔R¹は、(C₁-C₆)アルキル基である〕、又は-CR^{1'}R^{1''}-基〔R^{1'}及びR^{1''}は、いずれも、それぞれ独立して(C₁-C₆)アルキル基である〕であり；Yは、窒素原子又はCH基であり；Zは、式：

【化2】



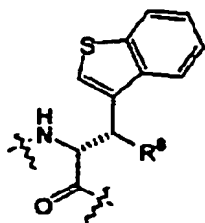
で表される基、式：

【化3】



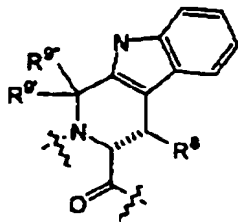
で表される基、式：

【化4】



で表される基、式：

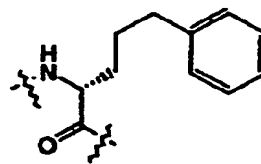
【化5】



で表される基、式：

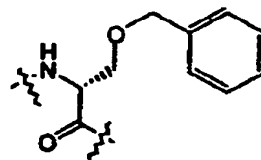
2

【化6】



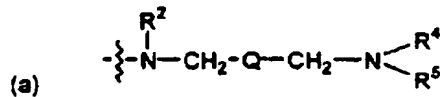
で表される基、及び式：

【化7】



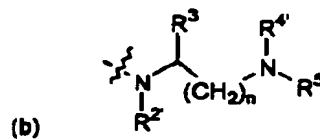
で表される基からなる群から選択した基であり、ここで、前記のそれぞれの式中、R⁶は、それが存在する場合には、水素原子又は(C₁-C₆)アルキル基であり；R^{6'}及びR^{6''}は、それらが存在する場合には、水素原子、(C₁-C₆)アルキル基、(C₁-C₆)ヘテロアリール(C₁-C₆)アルキル基、及び(C₆-C₁₀)アリール(C₁-C₆)アルキル基からなる群からそれぞれ独立して選択した基であり；Wは、式(a)：

【化8】



【式中、R²、R⁴、及びR⁵は、水素原子、場合により、ハロゲン原子又はトリフルオロメチル基1個以上で置換されていることのある(C₁-C₆)アルキル基、及び場合によりハロゲン原子又はトリフルオロメチル基1個以上で置換されていることのあるベンジル基からなる群からそれぞれ独立して選択した基であり；そしてQは、(i) (C₆-C₁₀)アリール基；(ii) (C₁-C₆)ヘテロアリール基；(iii) (C₃-C₁₀)シクロアルキル基；及び(iv) (C₃-C₁₀)ヘテロシクロアルキル基から選択した基であって、前記(i)～(iv)の基は、それぞれ、場合によりハロゲン原子、(C₁-C₆)アルコキシ基、及び(C₁-C₆)アルキル基から独立して選択した基1個以上で置換されていることがある】で表される基；及び式(b)：

【化9】



【式中、R^{2'}、R^{4'}、及びR^{5'}は、水素原子、場合によりハロゲン原子又はトリフルオロメチル基1個以上で置

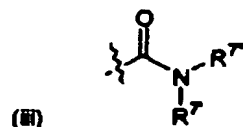
換されていることのある (C_1-C_6) アルキル基、及び場合によりハロゲン原子又はトリフルオロメチル基 1 個以上で置換されていることのあるベンジル基からなる群からそれぞれ独立して選択した基であり; n は、2~5 であり; そして R^5 は、(i) 水素原子、場合によりハロゲン原子又はトリフルオロメチル基 1 個以上で置換されていることのある (C_1-C_6) アルキル基、及び場合によりハロゲン原子又はトリフルオロメチル基 1 個以上で置換されていることのあるベンジル基; (ii) 式:

【化 10】



{式中、 R^6 は、水素原子、場合によりハロゲン原子若しくはトリフルオロメチル基 1 個以上で置換されていることのある (C_1-C_6) アルキル基、又は場合によりハロゲン原子若しくはトリフルオロメチル基 1 個以上で置換されていることのあるベンジル基である} で表される基; 及び (iii) 式:

【化 11】



{式中、 R^7 及び $R^{7'}$ は、それぞれ独立して、水素原子、場合によりハロゲン原子若しくはトリフルオロメチル基 1 個以上で置換されていることのある (C_1-C_6) アルキル基、又は場合によりハロゲン原子若しくはトリフルオロメチル基 1 個以上で置換されていることのあるベンジル基である} で表される基から選択した基である} で表される化合物、若しくはその薬剤学的に許容することのできる塩、溶媒化物、又は水化物。

【請求項 2】 基 A_r が、フェニル基及びナフチル基から選択した (C_6-C_{10}) アリール基である、請求項 1 に記載の化合物。

【請求項 3】 基 A_r が、フリル基、チエニル基、チアゾリル基、ピラゾリル基、イソチアゾリル基、オキサゾリル基、イソオキサゾリル基、ピロリル基、トリアゾリル基、テトラゾリル基、イミダゾリル基、1, 3, 5-オキサジアゾリル基、1, 2, 4-オキサジアゾリル基、1, 2, 3-オキサジアゾリル基、1, 3, 5-チアジアゾリル基、1, 2, 3-チアジアゾリル基、1, 2, 4-チアジアゾリル基、ピリジル基、ピリミジニル基、ピラジニル基、ピラダジニル基、1, 2, 4-トリアジニル基、1, 2, 3-トリアジニル基、1, 3, 5-トリアジニル基、ピラゾロ [3, 4-b] ピリジニル基、シンノリニル基、プテリジニル基、プリニル基、

6, 7-ジヒドロ-5H-[1] ピリンジニル基、ベンゾ [b] チオフェニル基、5, 6, 7, 8-テトラヒドロキノリン-3-イル基、ベンゾオキサゾリル基、ベンゾチアゾリル基、ベンゾイソチアゾリル基、ベンゾイソオキサゾリル基、ベンゾイミダゾリル基、チアナフテニル基、イソチアナフテニル基、ベンゾフラニル基、イソベンゾフラニル基、イソインドリル基、インドリル基、インドリジニル基、インダゾリル基、イソキノリル基、キノリル基、フタラジニル基、キノキサリニル基、キナゾリニル基、及びベンゾオキサジニル基からなる群から選択した (C_1-C_6) ヘテロアリール基である、請求項 1 に記載の化合物。

【請求項 4】 基 A_r が、場合により、ヒドロキシ基、ハロゲン原子、アミノ基、トリフルオロメチル基、カルボキシ基、(C_1-C_6) アルコキシ基、(C_1-C_6) アシルオキシ基、(C_1-C_6) アルキルアミノ基、[(C_1-C_6) アルキル]₂アミノ基、(C_1-C_6) アシルアミノ基、シアノ基、ニトロ基、(C_1-C_6) アルキル基、(C_2-C_6) アルケニル基、(C_2-C_6) アルキニル基、(C_1-C_6) アシルアミノ基、シアノ (C_1-C_6) アルキル基、トリフルオロメチル (C_1-C_6) アルキル基、ニトロ (C_1-C_6) アルキル基、(C_1-C_6) アルキル (ジフルオロメチレン) (C_1-C_6) アルキル基、(C_1-C_6) アシルアミノ (C_1-C_6) アルキル基、(C_1-C_6) アルコキシ (C_1-C_6) アシルアミノ基、アミノ (C_1-C_6) アシル基、アミノ (C_1-C_6) アシル (C_1-C_6) アルキル基、(C_1-C_6) アルキルアミノ (C_1-C_6) アシル基、[(C_1-C_6) アルキル]₂アミノ (C_1-C_6) アシル基、(C_3-C_{10}) シクロアルキル (C_1-C_6) アルキル基、(C_1-C_6) アシルオキシ (C_1-C_6) アルキル基、(C_2-C_6) アルコキシ (C_1-C_6) アルキル基、ピペラジニル (C_1-C_6) アルキル基、(C_1-C_6) アシルアミノ (C_1-C_6) アルキル基、(C_6-C_{10}) アリール (C_1-C_6) アルコキシ (C_1-C_6) アルキル基、(C_2-C_6) ヘテロアリール (C_1-C_6) アルコキシ (C_1-C_6) アルキル基、(C_1-C_6) アルキルチオ (C_1-C_6) アルキル基、(C_6-C_{10}) アリールチオ (C_1-C_6) アルキル基、(C_1-C_6) アルキルスルフィニル (C_1-C_6) アルキル基、(C_6-C_{10}) アリールスルフィニル (C_1-C_6) アルキル基、(C_1-C_6) アルキルスルホニル (C_1-C_6) アルキル基、(C_6-C_{10}) アリールスルホニル (C_1-C_6) アルキル基、アミノ (C_1-C_6) アルキル基、(C_1-C_6) アルキルアミノ (C_1-C_6) アルキル基、(C_1-C_6) アルキル (ジフルオロメチレン) 基、(C_1-C_6) アルキル (ジフルオロメチレン) (C_1-C_6) アルキル基、(C_1-C_6) アルコキシ (C_1-C_6) アシル基、(C_1-C_6) アルキルアミノ (C_1-C_6) アシル基、[(C_1-C_6) アルキル]₂アミノ (C_1-C_6) アシル基、(C_6-C_{10}) アリール基、

(C₆-C₉) ヘテロアリール基、(C₆-C₁₀) アリール (C₁-C₆) アルキル基、(C₂-C₉) ヘテロアリール (C₁-C₆) アルキル基、(C₆-C₁₀) アリール (C₆-C₁₀) アリール基、(C₆-C₁₀) アリール (C₆-C₁₀) アリール (C₁-C₆) アルキル基、(C₃-C₁₀) シクロアルキル基、(C₃-C₆) シクロアルキル (C₁-C₆) アルキル基、(C₃-C₁₀) ヘテロシクロアルキル基、(C₃-C₁₀) ヘテロシクロアルキル (C₁-C₆) アルキル基、ヒドロキシ (C₂-C₆) アルキル基、(C₁-C₆) アシルオキシ (C₂-C₆) アルキル基、(C₁-C₆) アルコキシ (C₂-C₆) アルキル基、ピペラジニル (C₁-C₆) アルキル基、(C₁-C₆) アシルアミノ (C₁-C₆) アルキル基、(C₆-C₁₀) アリール (C₁-C₆) アルコキシ (C₁-C₆) アルキル基、(C₂-C₉) ヘテロアリール (C₁-C₆) アルコキシ (C₁-C₆) アルキル基、(C₁-C₆) アルキルチオ (C₁-C₆) アルキル基、(C₆-C₁₀) アリールチオ (C₁-C₆) アルキル基、(C₁-C₆) アルキルスルフィニル (C₁-C₆) アルキル基、(C₆-C₁₀) アリールスルフィニル (C₁-C₆) アルキル基、(C₁-C₆) アルキルスルホニル (C₁-C₆) アルキル基、(C₆-C₁₀) アリールスルホニル (C₁-C₆) アルキル基、アミノ (C₁-C₆) アルキル基、(C₁-C₆) アルキルアミノ (C₁-C₆) アルキル基、及び [(C₁-C₆) アルキル]₂アミノ (C₁-C₆) アルキル基からなる群からそれぞれ独立して選択した置換基1~5個で置換されていることがある、請求項1に記載の化合物。

【請求項5】 基W〔選択枝(a)の場合〕の基Qが、フェニル基及びナフチル基から選択した(C₆-C₁₀) アリール基である、請求項1に記載の化合物。

【請求項6】 基W〔選択枝(a)の場合〕の基Qが、フリル基、チエニル基、チアゾリル基、ピラゾリル基、イソチアゾリル基、オキサゾリル基、イソオキサゾリル基、ピロリル基、トリアゾリル基、テトラゾリル基、イミダゾリル基、1, 3, 5-オキサジアゾリル基、1, 2, 4-オキサジアゾリル基、1, 2, 3-オキサジアゾリル基、1, 3, 5-チアジアゾリル基、1, 2, 3-チアジアゾリル基、1, 2, 4-チアジアゾリル基、ピリジル基、ピリミジル基、ピラジニル基、ピリダジニル基、1, 2, 4-トリアジニル基、1, 2, 3-トリアジニル基、1, 3, 5-トリアジニル基、ピラソロ

〔3, 4-b〕ピリジニル基、シンノリル基、プテリジニル基、プリニル基、6, 7-ジヒドロ-5H-

〔1〕ピリンジニル基、ベンゾ〔b〕チオフエニル基、5, 6, 7, 8-テトラヒドロキノリン-3-イル基、ベンゾオキサゾリル基、ベンゾチアゾリル基、ベンゾイソチアゾリル基、ベンゾイソオキサゾリル基、ベンゾイミダゾリル基、チアナフテニル基、イソチアナフテニル基、ベンゾフラニル基、イソベンゾフラニル基、イソインドリル基、インドリル基、インドリジニル基、イ

ンダゾリル基、イソキノリル基、キノリル基、フタラジニル基、キノキサリニル基、キナゾリル基、及びベンゾオキサジニル基からなる群から選択した(C₁-C₉) ヘテロアリール基である、請求項1に記載の化合物。

【請求項7】 基W〔選択枝(a)の場合〕の基Qが、シクロプロピル基、シクロブチル基、シクロペンチル基、シクロヘキシル基、シクロヘプチル基、シクロロペニル基、シクロブテニル基、シクロペンテニル基、シクロヘキセニル基、シクロヘプテニル基、1, 3-シクロプロタジエニル基、1, 3-シクロペンタジエニル基、1, 3-シクロヘキサジエニル基、1, 4-シクロヘキサジエニル基、1, 3-シクロヘプタジエニル基、1, 4-シクロヘプタジエニル基、1, 3, 5-シクロヘプタトリエニル基、ビシクロ〔3. 2. 1〕オクタン、ビシクロ〔2. 2. 1〕ヘプタン、及びそれらのノルボルン-2-エン不飽和形態からなる群から選択した(C₃-C₁₀) シクロアルキル基である、請求項1に記載の化合物。

【請求項8】 基W〔選択枝(a)の場合〕の基Qが、ピロリジニル基、テトラヒドロフラニル基、ジヒドロフラニル基、テトラヒドロピラニル基、ピラニル基、チオピラニル基、アジリジニル基、オキシラニル基、メチレンジオキシル基、クロメニル基、イソオキサゾリジニル基、1, 3-オキサゾリジン-3-イル基、イソチアゾリジニル基、1, 3-チアゾリジン-3-イル基、1, 2-ピラゾリジン-2-イル基、1, 3-ピラゾリジン-1-イル基、ピペリジニル基、チオモルホニル基、1, 2-テトラヒドロチアジン-2-イル基、1, 3-テトラヒドロチアジン-3-イル基、テトラヒドロチアジニル基、モルホリニル基、1, 2-テトラヒドロジアジン-2-イル基、1, 3-テトラヒドロジアジン-1-イル基、テトラヒドロアゼピニル基、ピペラジニル基、及びクロマニル基からなる群から選択した(C₃-C₁₀) ヘテロシクロアルキル基である、請求項1に記載の化合物。

【請求項9】 6-アミノ-2-〔2-〔(1-ベンゼンスルホニル-ピペリジン-4-カルボニル)-アミノ〕-3-(1H-インドール-3-イル)-プロピオニルアミノ〕-ヘキササン酸・tert-ブチルエステル；6-アミノ-2-〔2-〔(4-ベンゾイル-ピペラジン-1-カルボニル)-アミノ〕-3-(1H-インドール-3-イル)-プロピオニルアミノ〕-ヘキササン酸・tert-ブチルエステル；6-アミノ-2-〔3-(1H-インドール-3-イル)-2-〔4-(4-メチル-ベンゾイル)-ピペラジン-1-カルボニル〕-アミノ〕-プロピオニルアミノ〕-ヘキササン酸・tert-ブチルエステル；6-アミノ-2-〔2-〔(4-ベンゼンスルホニル-ピペラジン-1-カルボニル)-アミノ〕-3-(1H-インドール-3-イル)-プロピオニルアミノ〕-ヘキササン酸・tert-

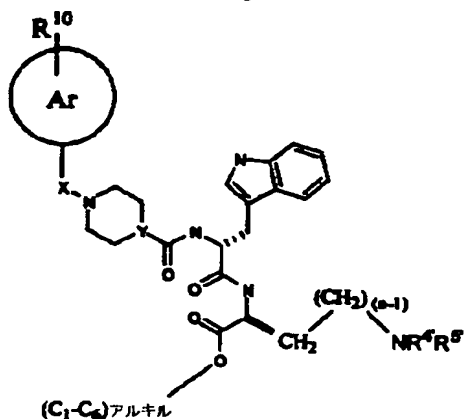
ブチルエステル；及び6-アミノ-2-（3-（1H-インドール-3-イル）-2-〔4-（トルエン-4-スルホニル）-ピペラジン-1-カルボニル〕-アミノ）-プロピオニルアミノ〕-ヘキサン酸・tert-ブチルエステルからなる群から選択した、請求項1に記載の化合物。

【請求項10】 4-（トルエン-4-スルホニル）-ピペラジン-1-カルボン酸・〔1-〔（4-アミノメチル-ピリジン-2-イルメチル）-カルバモイル〕-2-（1H-インドール-3-イル）-エチル〕-アミド；6-アミノ-2-（3-（1H-インドール-3-イル）-2-〔4-（トルエン-4-スルホニル）-ピペラジン-1-カルボニル〕-アミノ）-ブチルアミノ〕-ヘキサン酸・tert-ブチルエステル；6-アミノ-2-〔2-〔4-（4-フルオロベンゼン-1-カルボニル）-ピペラジン-1-カルボニル〕-アミノ〕-3-（1H-インドール-3-イル）-プロピオニルアミノ〕-ヘキサン酸・tert-ブチルエステル；4-ベンゼン-1-カルボン酸・〔1-〔（4-アミノメチル-ピリジン-2-イルメチル）-カルバモイル〕-2-（1H-インドール-3-イル）-エチル〕-アミド；6-アミノ-2-〔2-〔4-（4-ベンゼン-1-カルボニル）-ピペラジン-1-カルボニル〕-アミノ〕-3-（1H-インドール-3-イル）-ブチルアミノ〕-ヘキサン酸・tert-ブチルエステル；6-アミノ-2-〔2-〔4-（4-クロロベンゼン-1-カルボニル）-ピペラジン-1-カルボニル〕-アミノ〕-3-（1H-インドール-3-イル）-プロピオニルアミノ〕-ヘキサン酸・tert-ブチルエステル；4-（4-メチル-ベンゾイル）-ピペラジン-1-カルボン酸・〔1-〔（4-アミノメチル-ピリジン-2-イルメチル）-カルバモイル〕-2-（1H-インドール-3-イル）-エチル〕-アミド；6-アミノ-2-（3-（1H-インドール-3-イル）-2-〔4-（4-メチル-ベンゾイル）-ピペラジン-1-カルボニル〕-アミノ）-ブチルアミノ〕-ヘキサン酸・tert-ブチルエステル；6-アミノ-2-〔2-〔4-（4-フルオロベンゾイル）-ピペラジン-1-カルボニル〕-アミノ〕-3-（1H-インドール-3-イル）-プロピオニルアミノ〕-ヘキサン酸・tert-ブチルエステル；4-ベンゾイル-ピペラジン-1-カルボン酸・〔1-〔（4-アミノメチル-ピリジン-2-イルメチル）-カルバモイル〕-2-（1H-インドール-3-イル）-エチル〕-アミド；6-アミノ-2-〔2-〔4-（4-ベンゾイル-ピペラジン-1-カルボニル）-アミノ〕-3-（1H-インドール-3-イル）-ブチルアミノ〕-ヘキサン酸・tert-ブチルエステル；6-アミノ-2-〔2-〔4-（4-クロロベンゾイル）-ピペラジン-1-カルボニル〕-アミノ〕-3-（1H-イ

ンドール-3-イル）-プロピオニルアミノ〕-ヘキサン酸・tert-ブチルエステル；1-（トルエン-4-スルホニル）-ピペリジン-4-カルボン酸・〔1-〔（4-アミノメチル-ピリジン-2-イルメチル）-カルバモイル〕-2-（1H-インドール-3-イル）-エチル〕-アミド；6-アミノ-2-（3-（1H-インドール-3-イル）-2-〔1-（トルエン-4-スルホニル）-ピペリジン-4-カルボニル〕-アミノ）-ブチルアミノ〕-ヘキサン酸・tert-ブチルエステル；6-アミノ-2-〔2-〔1-（4-フルオロベンゼン-1-カルボニル）-ピペリジン-4-カルボニル〕-アミノ〕-3-（1H-インドール-3-イル）-プロピオニルアミノ〕-ヘキサン酸・tert-ブチルエステル；1-ベンゼン-1-カルボン酸・〔1-〔（4-アミノメチル-ピリジン-2-イルメチル）-カルバモイル〕-2-（1H-インドール-3-イル）-エチル〕-アミド；6-アミノ-2-〔2-〔1-（ベンゼン-1-カルボニル）-ピペリジン-4-カルボニル〕-アミノ〕-3-（1H-インドール-3-イル）-ブチルアミノ〕-ヘキサン酸・tert-ブチルエステル；6-アミノ-2-〔2-〔1-（4-クロロベンゼン-1-カルボニル）-ピペリジン-4-カルボニル〕-アミノ〕-3-（1H-インドール-3-イル）-プロピオニルアミノ〕-ヘキサン酸・tert-ブチルエステル；1-（4-メチル-ベンゾイル）-ピペリジン-4-カルボン酸・〔1-〔（4-アミノメチル-ピリジン-2-イルメチル）-カルバモイル〕-2-（1H-インドール-3-イル）-エチル〕-アミド；6-アミノ-2-（3-（1H-インドール-3-イル）-2-〔1-（4-メチル-ベンゾイル）-ピペリジン-4-カルボニル〕-アミノ）-ブチルアミノ〕-ヘキサン酸・tert-ブチルエステル；6-アミノ-2-〔2-〔1-（4-フルオロベンゾイル）-ピペリジン-4-カルボニル〕-アミノ〕-3-（1H-インドール-3-イル）-プロピオニルアミノ〕-ヘキサン酸・tert-ブチルエステル；1-ベンゾイル-ピペリジン-4-カルボン酸・〔1-〔（4-アミノメチル-ピリジン-2-イルメチル）-カルバモイル〕-2-（1H-インドール-3-イル）-エチル〕-アミド；6-アミノ-2-〔2-〔1-（ベンゾイル-ピペリジン-4-カルボニル）-アミノ〕-3-（1H-インドール-3-イル）-ブチルアミノ〕-ヘキサン酸・tert-ブチルエステル；及び6-アミノ-2-〔2-〔1-（4-クロロベンゾイル）-ピペリジン-4-カルボニル〕-アミノ〕-3-（1H-インドール-3-イル）-プロピオニルアミノ〕-ヘキサン酸・tert-ブチルエステルからなる群から選択した、請求項1に記載の化合物。

【請求項11】 式：

【化12】



〔Arは、場合により置換されていることがある、 (C_6-C_{10}) アリール基又は (C_1-C_6) ヘテロアリール基であり；Xは、直接結合、 $-CH_2-$ 基、 $-SO_2-$ 基、 $-CO-$ 基、 $-CHR^1-$ 基〔 R^1 は、 (C_1-C_6) アルキル基である〕、又は $-CR^{1'}R^{1''}$ 基〔 $R^{1'}$ 及び $R^{1''}$ は、いずれも、それぞれ独立して (C_1-C_6) アルキル基である〕であり；Yは、窒素原子又はCH基であり； R^{10} は、ハロゲン原子、シアノ基、カルボキシ基、 (C_1-C_6) アルキル基、及び (C_1-C_6) アルコキシ基からそれぞれ独立して選択した、場合により存在することのある0～5個の置換基であり； $R^{1'}$ 及び $R^{1''}$ は、それぞれ、水素原子、場合によりハロゲン原子又はトリフルオロメチル基1個以上で置換されていることのある (C_1-C_6) アルキル基、及び場合によりハロゲン原子又はトリフルオロメチル基1個以上で置換されていることのあるベンジル基から独立して選択した基であり；そしてnは、2～5である〕で表される化合物、若しくはその薬剤学的に許容することのできる塩、溶媒化物、又は水化物。

【請求項12】 R^2 又は $R^{2'}$ が、場合によりハロゲン原子又はトリフルオロメチル基1個以上で置換されていることのある、 (C_1-C_6) アルキル基又はベンジル基である、請求項1に記載の化合物。

【請求項13】 R^3 、 R^4 、 $R^{4'}$ 、 R^5 、 $R^{5'}$ 、及び R^6 の内の1個以上が、場合によりハロゲン原子又はトリフルオロメチル基1個以上で置換されていることのある、 (C_1-C_6) アルキル基又はベンジル基である、請求項1に記載の化合物。

【請求項14】 $R^{7'}$ 又は $R^{7''}$ が、場合によりハロゲン原子又はトリフルオロメチル基1個以上で置換されていることのある、 (C_1-C_6) アルキル基又はベンジル基である、請求項1に記載の化合物。

【請求項15】 有効量の請求項1に記載の化合物、及び薬剤学的に許容することのできる担体を含む、哺乳動物における成長ホルモンの分泌増加用医薬組成物。

【請求項16】 有効量の請求項1に記載の化合物、及び薬剤学的に許容することのできる担体を含む、哺乳動

物におけるガストリン又はグルカゴンの分泌増加用医薬組成物。

【請求項17】 有効量の請求項1に記載の化合物、及び薬剤学的に許容することのできる担体を含む、sst2レセプターに対するソマトスタチンの結合阻害用医薬組成物。

【請求項18】 請求項1に記載の化合物、及び薬剤学的に許容することのできる担体を含む、成長ホルモンの持続した放出が必要な哺乳動物において成長ホルモンの持続した放出を発生させるために有用な医薬組成物。

【請求項19】 更に、成長ホルモン放出ペプチド(GHRP)又は成長ホルモン放出ホルモン(GHRH)を含む、請求項15に記載の医薬組成物。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、下垂体前葉による成長ホルモン(GH)の分泌を促進させる薬剤学的に活性な化合物に関する。成長ホルモン(ソマトトロピンとしても知られている)は、肝臓由来のインスリン様成長因子-1の生成を刺激することによって、小児における骨格成長を間接的に促進する作用をする。また、成長ホルモンは、脂肪細胞と軟骨細胞(コラーゲン及びプロテオグリカン類を分泌して軟骨を形成する細胞)との分化も刺激する。成人においては、成長ホルモンは、結合組織及び筋肉組織を適切に維持することに関係している。

【0002】成長ホルモン欠損症は、先天性又は後天性であることがある。小児における欠損は、遅延した骨格成長を発生させ、もし治療されなかった場合には、永久的に身長が低いままになる。高齢の成人において成長ホルモンが欠損すると、結果として脆弱になる。GH欠損の別の成人症状としては、しわのよった肌及び低血糖症を挙げることができる。獣医学的適用に関して、高齢の動物(特に、コンパニオンアニマル)における脆弱さを治療するには、成長ホルモンのアップレギュレーションが有用である。家畜に関する成長ホルモンのアップレギュレーションは、GHレベルが通常である健康な動物においてさえ、成長及び能力を向上させる。飼料効率、乳の収量、肉の引き締まり(leanness)、肉の品質、及び受胎能が向上することはよく知られている。

【0003】成長ホルモンの直接投与は、或る治療上の適用において有効なことがあるが、実用には困難がある。他の問題として、体内における成長ホルモンの半減期が非常に短いので、直接投与は循環GHの濃度を人為的に上昇したレベルに導くが、次いで急速に下降する。持続的放出(例えば、機械的ポンプによる放出)は最適な実施には至っていない。体内を循環している成長ホルモンの濃度は、多くの生化学的経路(妨害過程を含む)のバランスによって変化する。これらの経路のバランスを変化させることは、前記の直接投与のアプローチと比較して、持続的なペースでGH分泌に影響する方法を、

より安全で、より再現性のあるものとして、間接的に提供する。このアプローチの下では、全体的な調節体制がそのままの (i n t a c t) 状態で残るので、GHに関する分泌速度及び循環濃度が比較的正常のパターンに従い、そして分泌速度及び循環GH濃度の両方における不利な変動が回避される。本発明は、成長ホルモンの下垂体からの分泌を間接的に上昇させる治療用化合物及びそれらの使用に関する。

【従来の技術及び発明が解決しようとする課題】成長ホルモンは、視床下部起源の成長ホルモン放出ペプチド (GHRP) 及び成長ホルモン放出ホルモン (GHRH) による刺激に応答して下垂体前葉から放出される。しかしながら、これら又は他の機構を介した成長ホルモンの放出は、ソマトスタチンによって阻害され、従って、このプロセスは厳密に調節されている。ソマトスタチン (SRIF) は、アミノ酸14個の (28個のアミノ酸型もある) 環式ペプチドホルモンであり、多数の内分泌機能を有し、多くのホルモンと同様により大きな前駆体タンパク質から開裂される。ソマトスタチンは、成長ホルモンの下垂体分泌、グルカゴン及びインスリンの膵臓分泌、及び腸からのガストリンの分泌を阻害する。ソマトスタチンは、神経伝達物質/神経調節物質 (neuro modulator) としても作用する (一般論に関しては、S. J. H o c a r t ら, J. Med. Chem., 41, 1146~1154頁, 1998年を参照されたい)。

【0004】ソマトスタチンの生物学的作用は明らかに全て本質的に阻害的なものであり、標的細胞の表面に結合することによって引き起こされる。レセプターは、一體的な膜タンパク質 (細胞膜に広がっている) であり、G-タンパク質共役型である。G-タンパク質共役型レセプターは、細胞表面レセプターの主要な群を代表するものである。ソマトスタチンがレセプターに結合すると、レセプターは、配座変化を受け、レセプターの細胞質面でG-タンパク質とレセプターとの相互作用を促進すると考えられている。このことは、Gタンパク質におけるGTP/GDPの結合又は放出を促進し、細胞内部の一層の活性化及びシグナル事象 (signaling events) へと導く。とりわけ、ソマトスタチンのそれ自体のG-タンパク質共役型レセプターにおける結合は、サイクリックAMPの生産に必要なアデニリルシクラーゼ活性に否定的に共役している。このように、これらの一層のシグナル事象は、例えば、カルシウムイオン又はサイクリックAMPによって媒介されるように、直接に機構に対抗し、それによってGHRP及びGHRHは、細胞質の貯蔵顆粒からの成長ホルモンの細胞外分泌を他の方法で誘発する。その一般的な概説については、The Encyclopedia of Molecular Biology, J. Kendrew 編, Blackwell Science, Ltd.,

1994年, 387頁を参照されたい。

【0005】ソマトスタチンの標的細胞への作用は、少なくとも5群のレセプター (sst1~sst5) によって媒介される。これらのレセプターは、ソマトスタチンに対して類似した親和性を有していることがあるが、種々の組織において種々に発現され、そしてそのように位置し、種々の細胞内のシグナル成分と直接的に又は間接的に相互作用する。このレセプター発現の組織特異性は、種々の標的細胞のタイプにおけるソマトスタチンの種々の作用を十分に説明している。ソマトスタチンレセプターは、例えば、下垂体前葉の組織、他の脳組織、膵臓、肺、リンパ球上、及び腸管の粘膜細胞上に見出される。sst2タイプのレセプターは、下垂体前葉における成長ホルモン分泌の阻害を媒介することが知られている。このレセプターは、また、sst2遺伝子転写物の異なるスプライシングから生じる2つの型、タンパク質sst2A及びsst2Bとして報告されている

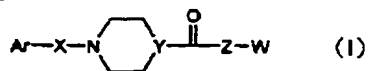
(M. Vanetti ら, FEBS Letters, 311, 290~294頁, 1992年)。また、前記sst2レセプターは、ガストリン及びヒスタミン分泌の阻害を媒介することが知られている。更に、sst2レセプターは、膵臓アルファ細胞からのグルカゴン放出の阻害を媒介することが知られている。

【0006】多数のソマトスタチンアゴニストが記載されている (例えば、WO98/44922、WO98/45285、及びWO98/44921を参照されたい) が、有用なsst2結合型のソマトスタチンアンタゴニストの開発は遅れをとってきた。前記化合物の最近の報告には、W. R. Baumbach ら, Molecular Pharmacology, 54, 864~873頁, 1998年、及びS. J. H o c a r t ら, J. Med. Chem., 41, 1146~1154頁, 1998年がある。しかしながら、前記化合物は短いペプチドであり、体内での典型的に短い半減期のために、薬剤として成功する使用にはしばしば適していない一群の分子である。薬剤としての優れた特性 (例えば、生物学的利用能及び安定性等) を有し、sst2タイプのレセプターに有効な、ソマトスタチン活性のアンタゴニストを提供することは、好都合なことであろう。本発明は、哺乳動物の下垂体前葉において細胞のsstサブタイプ2レセプターへのソマトスタチンの結合を特異的に妨げ、そして追加の有用な特性をもった、一連のアンタゴニスト化合物を提供するものである。

【0007】

【課題を解決するための手段】本発明は、式 (I) :

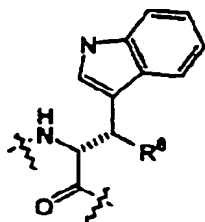
【化13】



〔式中、Arは、(C₆-C₁₀) アリール基又は (C₁-

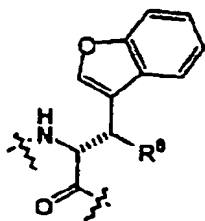
C₆)ヘテロアリール基であり;Xは、直接結合、-CH₂-基、-SO₂-基、-CO-基、-CHR¹-基
[R¹は、(C₁-C₆)アルキル基である]、又は-C
R¹R¹-基[R¹及びR¹は、いずれも、それぞれ独立して(C₁-C₆)アルキル基である]であり;Yは、
窒素原子又はCH基であり;Zは、式:

【化 1 4】



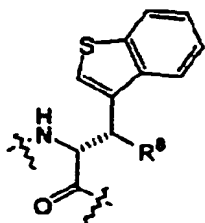
で表される基、式：

【化 1 5】



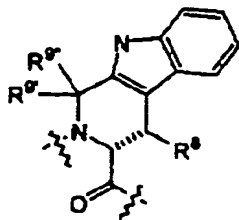
で表される基、式：

【化 16】



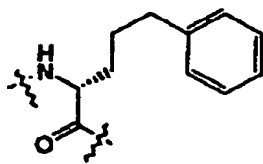
で表される基、式：

【化 1 7】



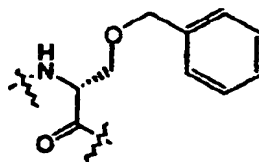
で表される基、式：

【化18】



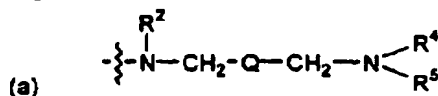
で表される基、及び式：

【化 19】



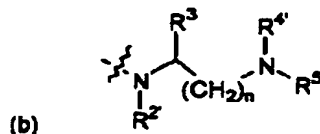
で表される基からなる群から選択した基であり、ここで、前記のそれぞれの式中、 R^0 は、それが存在する場合には、水素原子又は (C_1-C_6) アルキル基であり；そして R^1 及び R^2 は、それらが存在する場合には、水素原子、 (C_1-C_6) アルキル基、 (C_1-C_9) ヘテロアリール (C_1-C_6) アルキル基、及び (C_6-C_{10}) アリール (C_1-C_6) アルキル基からなる群からそれぞれ独立して選択した基であり； W は、式(a)：

【化20】



〔式中、 R^2 、 R^4 、及び R^5 は、水素原子、場合によりハロゲン原子又はトリフルオロメチル基１個以上で置換されていることのある（ C_1-C_6 ）アルキル基〔例えば、（ C_1-C_6 ）アルキル基〕、及び場合によりハロゲン原子又はトリフルオロメチル基１個以上で置換されていることのあるベンジル基からなる群からそれぞれ独立して選択した基であり；そしてQは、(i) (C_6-C_{10}) アリール基；(ii) (C_1-C_6) ヘテロアリール基；(iii) (C_3-C_{10}) シクロアルキル基；及び (iv) (C_3-C_{10}) ヘテロシクロアルキル基から選択した基であって、前記 (i) ~ (iv) の基は、それぞれ、場合によりハロゲン原子、(C_1-C_4) アルコキシ基、及び (C_1-C_6) アルキル基から独立して選択した基１個以上で置換されていることがある〕で表される基；及び式 (b)：

【化 2 1】

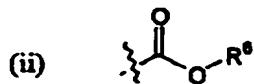


〔式中、 $R^{2'}$ 、 $R^{4'}$ 、及び $R^{5'}$ は、水素原子、場合によりハロゲン原子又はトリフルオロメチル基1個以上で置換されていることのある(C_1-C_6)アルキル基〔例えば、(C_1-C_6)アルキル基〕、及び場合によりハロゲン原子又はトリフルオロメチル基1個以上で置換されていることのあるベンジル基からなる群からそれぞれ独立して選択した基であり； n は、2～5であり；そして R^3 は、(i)水素原子、場合によりハロゲン原子又はトリフルオロメチル基1個以上で置換されていること

15

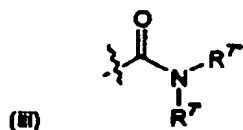
のある (C_1-C_6) アルキル基、及び場合によりハロゲン原子又はトリフルオロメチル基1個以上で置換されていることのあるベンジル基； (ii) 式：

【化22】



{式中、 R^6 は、水素原子、場合によりハロゲン原子若しくはトリフルオロメチル基1個以上で置換されていることのある (C_1-C_6) アルキル基 [例えば、(C_1-C_6) アルキル基]、又は場合によりハロゲン原子若しくはトリフルオロメチル基1個以上で置換されていることのあるベンジル基である} で表される基；及び (ii) 式：

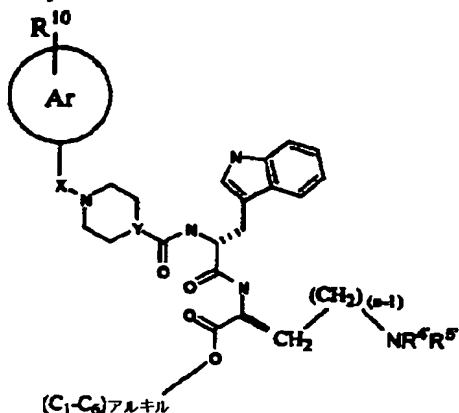
【化23】



{式中、 R^7 及び $R^{7'}$ は、それぞれ独立して、水素原子、場合によりハロゲン原子若しくはトリフルオロメチル基1個以上で置換されていることのある (C_1-C_6) アルキル基 [例えば、(C_1-C_6) アルキル基]、又は場合によりハロゲン原子若しくはトリフルオロメチル基1個以上で置換されていることのあるベンジル基である} で表される基からなる群から選択した基である} で表される基から選択した基である} で表される化合物、若しくはその薬剤学的に許容することのできる塩、溶媒化物、又は水化物に関する。

【0008】本発明の好ましい化合物としては、式：

【化24】



[基 Ar は、前記の定義と同じ意味の、(C_6-C_{10}) アリール基又は (C_1-C_6) ヘテロアリール基であり； R^{10} は、ヒドロキシ基、ハロゲン原子、アミノ基、トリフルオロメチル基、カルボキシ基、(C_1-C_6) アルコキシ基、(C_1-C_6) アシルオキシ基、(C_1-C_6) ア

16

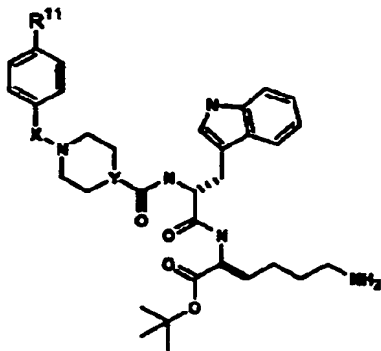
ルキルアミノ基、[(C_1-C_6) アルキル]₂アミノ基、(C_1-C_6) アシルアミノ基、シアノ基、ニトロ基、(C_1-C_6) アルキル基、(C_2-C_6) アルケニル基、(C_2-C_6) アルキニル基、(C_1-C_6) アシルアミノ基、シアノ (C_1-C_6) アルキル基、トリフルオロメチル (C_1-C_6) アルキル基、ニトロ (C_1-C_6) アルキル基、(C_1-C_3) アルキル (ジフルオロメチレン) (C_1-C_3) アルキル基、(C_1-C_6) アシルアミノ (C_1-C_6) アルキル基、(C_1-C_6) アルコキシ (C_1-C_6) アシルアミノ基、アミノ (C_1-C_6) アシル基、アミノ (C_1-C_6) アシル (C_1-C_6) アルキル基、(C_1-C_6) アルキルアミノ (C_1-C_6) アシル基、[(C_1-C_6) アルキル]₂アミノ (C_1-C_6) アシル基、(C_3-C_{10}) シクロアルキル (C_1-C_6) アルキル基、(C_1-C_6) アシルオキシ (C_1-C_6) アルキル基、(C_2-C_6) アルコキシ (C_1-C_6) アルキル基、ピペラジニル (C_1-C_6) アルキル基、(C_1-C_6) アシルアミノ (C_1-C_6) アルキル基、(C_6-C_{10}) アリール (C_1-C_6) アルコキシ (C_1-C_6) アルキル基、(C_2-C_6) ヘテロアリール (C_1-C_6) アルコキシ (C_1-C_6) アルキル基、(C_1-C_6) アルキルチオ (C_1-C_6) アルキル基、(C_6-C_{10}) アリールチオ (C_1-C_6) アルキル基、(C_1-C_6) アルキルスルフィニル (C_1-C_6) アルキル基、(C_6-C_{10}) アリールスルフィニル (C_1-C_6) アルキル基、(C_1-C_6) アルキルスルホニル (C_1-C_6) アルキル基、(C_6-C_{10}) アリールスルホニル (C_1-C_6) アルキル基、アミノ (C_1-C_6) アルキル基、(C_1-C_6) アルキルアミノ (C_1-C_6) アルキル基、(C_1-C_6) アルキル (ジフルオロメチレン) 基、(C_1-C_3) アルキル (ジフルオロメチレン) (C_1-C_3) アルキル基、(C_1-C_6) アルコキシ (C_1-C_6) アシル基、(C_1-C_6) アルキルアミノ (C_1-C_6) アシル基、[(C_1-C_6) アルキル]₂アミノ (C_1-C_6) アシル基、(C_6-C_{10}) アリール基、(C_5-C_9) ヘテロアリール基、(C_6-C_{10}) アリール (C_1-C_6) アルキル基、(C_2-C_6) ヘテロアリール (C_1-C_6) アルキル基、(C_6-C_{10}) アリール (C_6-C_{10}) アリール基、(C_6-C_{10}) アリール (C_6-C_{10}) アリール (C_1-C_6) アルキル基、(C_3-C_{10}) シクロアルキル基、(C_3-C_6) シクロアルキル (C_1-C_6) アルキル基、(C_3-C_{10}) ヘテロシクロアルキル基、(C_3-C_{10}) ヘテロシクロアルキル (C_1-C_6) アルキル基、ヒドロキシ (C_2-C_6) アルキル基、(C_1-C_6) アシルオキシ (C_2-C_6) アルキル基、(C_1-C_6) アルコキシ (C_2-C_6) アルキル基、ピペラジニル (C_1-C_6) アルキル基、(C_1-C_6) アシルアミノ (C_1-C_6) アルキル基、(C_6-C_{10}) アリール (C_1-C_6) アルコキシ (C_1-C_6) アルキル基、(C_2-C_6) ヘテロアリール (C_1-C_6) アルコキシ (C_1-C_6) アルキル基、(C

$_1-C_6$) アルキルチオ (C_1-C_6) アルキル基、(C_6-C_{10}) アリールチオ (C_1-C_6) アルキル基、(C_1-C_6) アルキルスルフィニル (C_1-C_6) アルキル基、(C_6-C_{10}) アリールスルフィニル (C_1-C_6) アルキル基、(C_1-C_6) アルキルスルホニル (C_1-C_6) アルキル基、(C_6-C_{10}) アリールスルホニル (C_1-C_6) アルキル基、アミノ (C_1-C_6) アルキル基、(C_1-C_6) アルキルアミノ (C_1-C_6) アルキル基、及び [(C_1-C_6) アルキル]₂アミノ (C_1-C_6) アルキル基からなる群からそれぞれ独立して選択した、場合により存在することのある 0~5 個の置換基 [好ましい前記 R^{10} は、ハロゲン原子、シアノ基、カルボキシ基、(C_1-C_6) アルキル基、及び (C_1-C_6) アルコキシ基から選択した基である] であり；X は、 $-CH_2-$ 基、 $-SO_2-$ 基、 $-CO-$ 基、又は直接結合であり；Y は、CH 基又は窒素原子であり；(n-1) は、1~4 であり；そして $R^{4'}$ 及び $R^{5'}$ は、それぞれ、水素原子、場合によりハロゲン原子又はトリフルオロメチル基 1 個以上で置換されていることのある (C_1-C_6) アルキル基、及び場合によりハロゲン原子又はトリフルオロメチル基 1 個以上で置換されていることのあるベンジル基から独立して選択した基 [より好ましい前記 $R^{4'}$ 及び $R^{5'}$ は、それぞれ、水素原子及びメチル基から独立して選択した基である] である] で表される化合物、若しくはその薬学的に許容することのできる塩、溶媒化物、又は水化物を挙げることができる。

【0009】別の好ましい化合物としては、基 Ar が、フェニル基であり、そして前記のとおり、場合により置換基 R^{10} 0~5 個が存在することがある、直前の段落に記載の式で表される化合物を挙げることができる。

【0010】更に好ましい本発明の化合物は、式：

【化 25】



[式中、 R^{11} は、 R^{10} の定義から選択した基、好ましくは、ハロゲン原子、シアノ基、カルボキシ基、(C_1-C_6) アルキル基、及び (C_1-C_6) アルコキシ基から選択した基であり；X は、 $-CH_2-$ 基、 $-SO_2-$ 基、 $-CO-$ 基、又は直接結合であり；そして Y は、CH 基又は窒素原子である] で表される化合物、及びその薬学的に許容することのできる塩、溶媒化物、並びに水化

物である。

【0011】本発明の好ましい化合物としては、6-アミノ-2-[2-[(1-ベンゼンスルホニル-ピペラジン-4-カルボニル)-アミノ]-3-(1H-インドール-3-イル)-プロピオニルアミノ]-ヘキサン酸・tert-ブチルエステル；6-アミノ-2-[2-[(4-ベンゾイル-ピペラジン-1-カルボニル)-アミノ]-3-(1H-インドール-3-イル)-プロピオニルアミノ]-ヘキサン酸・tert-ブチルエステル；6-アミノ-2-(3-(1H-インドール-3-イル)-2-{[4-(4-メチル-ベンゾイル)-ピペラジン-1-カルボニル]-アミノ}-プロピオニルアミノ)-ヘキサン酸・tert-ブチルエステル；6-アミノ-2-[2-[(4-ベンゼンスルホニル-ピペラジン-1-カルボニル)-アミノ]-3-(1H-インドール-3-イル)-プロピオニルアミノ]-ヘキサン酸・tert-ブチルエステル；及び 6-アミノ-2-(3-(1H-インドール-3-イル)-2-{[4-(トルエン-4-スルホニル)-ピペラジン-1-カルボニル]-アミノ}-プロピオニルアミノ)-ヘキサン酸・tert-ブチルエステルを挙げることができる。

【0012】別の本発明の化合物としては、4-(トルエン-4-スルホニル)-ピペラジン-1-カルボン酸・[1-[(4-アミノメチル-ピリジン-2-イルメチル)-カルバモイル]-2-(1H-インドール-3-イル)-エチル]-アミド；6-アミノ-2-(3-(1H-インドール-3-イル)-2-{[4-(トルエン-4-スルホニル)-ピペラジン-1-カルボニル]-アミノ}-ブチルアミノ)-ヘキサン酸・tert-ブチルエステル；6-アミノ-2-[2-{[4-(4-フルオロ-ベンゼンスルホニル)-ピペラジン-1-カルボニル]-アミノ}-3-(1H-インドール-3-イル)-プロピオニルアミノ]-ヘキサン酸・tert-ブチルエステル；4-ベンゼンスルホニル-ピペラジン-1-カルボン酸・[1-[(4-アミノメチル-ピリジン-2-イルメチル)-カルバモイル]-2-(1H-インドール-3-イル)-エチル]-アミド；6-アミノ-2-[2-[(4-ベンゼンスルホニル-ピペラジン-1-カルボニル)-アミノ]-3-(1H-インドール-3-イル)-ブチルアミノ]-ヘキサン酸・tert-ブチルエステル；6-アミノ-2-[2-{[4-(4-クロロ-ベンゼンスルホニル)-ピペラジン-1-カルボニル]-アミノ}-3-(1H-インドール-3-イル)-プロピオニルアミノ]-ヘキサン酸・tert-ブチルエステル；4-(4-メチル-ベンゾイル)-ピペラジン-1-カルボン酸・[1-[(4-アミノメチル-ピリジン-2-イルメチル)-カルバモイル]-2-(1H-インドール-3-イル)-エチル]-アミド；6-アミノ-2-

(3-(1H-インドール-3-イル)-2-{[4-(4-メチル-ベンゾイル)-ピペラジン-1-カルボニル]-アミノ}-ブチルアミノ)-ヘキサ酸・tert-ブチルエステル; 6-アミノ-2-[2-{[4-(4-フルオロ-ベンゾイル)-ピペラジン-1-カルボニル]-アミノ}-3-(1H-インドール-3-イル)-プロピオニルアミノ]-ヘキサ酸・tert-ブチルエステル; 4-ベンゾイル-ピペラジン-1-カルボン酸・[1-[4-アミノメチル-ピリジン-2-イルメチル]-カルバモイル]-2-(1H-インドール-3-イル)-エチル]-アミド; 6-アミノ-2-[2-[4-ベンゾイル-ピペラジン-1-カルボニル]-アミノ]-3-(1H-インドール-3-イル)-ブチルアミノ]-ヘキサ酸・tert-ブチルエステル; 6-アミノ-2-[2-{[4-(4-クロロ-ベンゾイル)-ピペラジン-1-カルボニル]-アミノ}-3-(1H-インドール-3-イル)-プロピオニルアミノ]-ヘキサ酸・tert-ブチルエステル; 1-(トルエン-4-スルホニル)-ピペリジン-4-カルボン酸・[1-[4-アミノメチル-ピリジン-2-イルメチル]-カルバモイル]-2-(1H-インドール-3-イル)-エチル]-アミド; 6-アミノ-2-(3-(1H-インドール-3-イル)-2-{[1-(トルエン-4-スルホニル)-ピペリジン-4-カルボニル]-アミノ}-ブチルアミノ)-ヘキサ酸・tert-ブチルエステル; 6-アミノ-2-[2-{[1-(4-フルオロ-ベンゼンスルホニル)-ピペリジン-4-カルボニル]-アミノ}-3-(1H-インドール-3-イル)-プロピオニルアミノ]-ヘキサ酸・tert-ブチルエステル; 1-ベンゼンスルホニル-ピペリジン-4-カルボン酸・[1-[4-アミノメチル-ピリジン-2-イルメチル]-カルバモイル]-2-(1H-インドール-3-イル)-エチル]-アミド; 6-アミノ-2-[2-[1-ベンゼンスルホニル-ピペリジン-4-カルボニル]-アミノ]-3-(1H-インドール-3-イル)-ブチルアミノ]-ヘキサ酸・tert-ブチルエステル; 6-アミノ-2-[2-{[1-(4-クロロ-ベンゼンスルホニル)-ピペリジン-4-カルボニル]-アミノ}-3-(1H-インドール-3-イル)-プロピオニルアミノ]-ヘキサ酸・tert-ブチルエステル; 1-(4-メチル-ベンゾイル)-ピペリジン-4-カルボン酸・[1-[4-アミノメチル-ピリジン-2-イルメチル]-カルバモイル]-2-(1H-インドール-3-イル)-エチル]-アミド; 6-アミノ-2-(3-(1H-インドール-3-イル)-2-{[1-(4-メチル-ベンゾイル)-ピペリジン-4-カルボニル]-アミノ}-ブチルアミノ)-ヘキサ酸・tert-ブチルエステル; 6-アミノ-2-[2-{[1-(4-フルオロ-ベンゾ

ル)-ピペリジン-4-カルボニル]-アミノ}-3-(1H-インドール-3-イル)-プロピオニルアミノ]-ヘキサ酸・tert-ブチルエステル; 1-ベンゾイル-ピペリジン-4-カルボン酸・[1-[4-アミノメチル-ピリジン-2-イルメチル]-カルバモイル]-2-(1H-インドール-3-イル)-エチル]-アミド; 6-アミノ-2-[2-[1-ベンゾイル-ピペリジン-4-カルボニル]-アミノ]-3-(1H-インドール-3-イル)-ブチルアミノ]-ヘキサ酸・tert-ブチルエステル; 及び6-アミノ-2-[2-{[1-(4-クロロ-ベンゾイル)-ピペリジン-4-カルボニル]-アミノ}-3-(1H-インドール-3-イル)-プロピオニルアミノ]-ヘキサ酸・tert-ブチルエステルを挙げることができる。

【0013】式(I)で表される化合物は、キラル中心を有して、従って、種々のエナンチオマー形態で存在することがある。後に、或る異性体構造が好ましい旨を詳細に説明するが、本発明は、前記式(I)で表される化合物の全ての光学異性体、互変異性体、及び立体異性体、並びにそれらの混合物に関する。

【0014】また、本発明は、式(I)で表される化合物の薬剤学的に許容することのできる酸付加塩に関する。本発明の前記塩基化合物の式(I)で表される化合物の薬剤学的に許容することのできる酸付加塩を調製するために使用する酸は、無毒の酸付加塩(すなわち薬理学的に許容することのできるアニオンを含む塩)、例えば、塩酸塩、臭化水素酸塩、ヨウ化水素酸塩、硝酸塩、硫酸塩、重硫酸塩、リン酸塩、酸性リン酸塩、酢酸塩、乳酸塩、クエン酸塩、酸性クエン酸塩、酒石酸塩、重酒石酸塩、コハク酸塩、マレイン酸塩、フマル酸塩、グルコン酸塩、糖酸塩、安息香酸塩、メタンスルホン酸塩、エタンスルホン酸塩、ベンゼンスルホン酸塩、p-トルエンスルホン酸塩、及びパモ酸塩[すなわち、1, 1'-メチレン-ビス-(2-ヒドロキシ-3-ナフトエ酸)塩]を形成する酸である。

【0015】また、許容される比較的限定的な数の化合物に関して、本発明は、式(I)で表される化合物の塩基付加塩にも関する。本質的に酸性である式(I)で表されるこれらの化合物の薬剤学的に許容することのできる塩基塩を調製するための試薬として用いることのできる化学的塩基は、その化合物と無毒の塩基塩を形成する塩基である。前記の無毒の塩基塩としては、以下に限定されるものでないが、前記の薬理学的に許容することのできるカチオン、例えばアルカリ金属カチオン(例えば、カリウム及びナトリウム)及びアルカリ土類金属カチオン(例えば、カルシウム及びマグネシウム)、アンモニウム、又は水溶性アミンの付加塩[例えば、N-メチルグルカミン-(メグルミン)]、並びに低級アルカノールアンモニウム、及び薬剤学的に許容することので

きる有機アミンの別の塩基塩を挙げることができる。

【0016】また、本発明は、実際は、原子1個以上が、天然に通常発見される原子量及び質量数と異なる原子量及び質量数を有する原子によって置換されていることを除けば式(I)に記載の化合物と同じである同位体標識化合物も含む。本発明の化合物中に含まれることのできる同位体としては、例えば、水素原子、炭素原子、窒素原子、酸素原子、リン原子、イオウ原子、フッ素原子、及び塩素原子の同位体、例えば、それぞれ、 ^2H 、 ^3H 、 ^{13}C 、 ^{14}C 、 ^{15}N 、 ^{18}O 、 ^{17}O 、 ^{31}P 、 ^{32}P 、 ^{35}S 、 ^{18}F 、及び ^{12}C を挙げることができる。前記同位体及び／又は別の原子の別の同位体を含有する本発明の化合物、そのプロドラッグ、及び前記化合物若しくは前記プロドラッグの薬剤学的に許容することのできる塩は、本発明の範囲内に含まれるものとする。本発明の或る同位体標識化合物〔例えば、放射性同位体（例えば、 ^3H 及び ^{14}C ）を含むもの〕は、薬剤及び／又は基質組織分配アッセイにおいて有用である。トリチウム化(tritiated)（すなわち、 ^3H ）及び炭素-14（すなわち、 ^{14}C ）同位体が、調製及び検出が容易なので、特に好ましい。更に、より重い同位体、例えば、ジューテリウム（すなわち、 ^3H ）による置換は、代謝安定性がより大きくなるという或る治療の有利性（例えば、イン・ビボ半減期の増加、又は必要投与量の減少）を得ることができ、従って、いくらかの状況において好ましいことがある。本発明の式(I)で表される同位体標識化合物及びそのプロドラッグは、一般に、非同位体標識試薬を容易に入手することのできる同位体標識試薬に置き換えることによって、後出の反応工程式及び／又は実施例及び調製例に記載の手順を実施することにより調製される。

【0017】また、本発明は、有効量の式(I)で表される化合物、及び薬剤学的に許容することのできる担体を含む、哺乳動物（ヒトを含む）における成長ホルモンの分泌増加用医薬組成物に関する。また、本発明は、有効量の式(I)で表される化合物、及び薬剤学的に許容することのできる担体を含む、哺乳動物におけるガストリン又はグルカゴンの分泌増加用医薬組成物に関する。

【0018】また、本発明は、成長ホルモン、グルカゴン、又はガストリンの減少したレベルによって特徴付けられる疾患の治療に有効量の式(I)で表される化合物、及び薬剤学的に許容することのできる担体を含む、哺乳動物（ヒトを含む）における、前記疾患治療用の医薬組成物に関する。また、本発明は、有効量の式(I)で表される化合物、及び薬剤学的に許容することのできる担体を含む、哺乳動物（ヒトを含む）における、sst2タイプレセプターに対するソマトスタチンの結合を阻害することによって治療を実施することができる疾患治療用医薬組成物に関する。

【0019】本発明は、哺乳動物（ヒトを含む）にお

る成長ホルモン欠損の治療方法に用いることができる。

また、本発明は、哺乳動物（ヒトを含む）において成長ホルモンレベルを上昇させること（これは、哺乳動物中に存在する成長ホルモンの自然レベルが正常の範囲内であるかに関わらず、前記哺乳動物に有益である）に用いることができる。前記方法を実施する場合は、式(I)で表される化合物及び薬剤学的担体を含む本発明の医薬組成物を投与する。

【0020】同様に、本発明の方法は、医学的に適当な場合には、哺乳動物（ヒトを含む）におけるガストリン分泌又はグルカゴン分泌を増加することに用いることができる。例えば、ガストリンは、化学物質（例えば、アルコール）による損傷に対する胃粘膜の保護に関係している〔S. J. Konturekら, European Journal of Pharmacology, 278 (3), pp. 203-212, 1995〕。グルカゴンは、低血糖症の治療に用いられる対向調節(counter-regulatory)ホルモンであり、ベータ-1アドレナリン受容体刺激を必要とせずに、陽性の変力性及び変時性作用を起こす。また、これは、ベータ遮断剤、ベラパミル、及びイミプラミンの過剰投与を治療するために用いることもでき、そして（心不全に対する）ショック状態及びカウンターショック後の不全収縮の治療における付加的治療方法としても用いられる〔C. M. White, Journal of Clinical Pharmacology, 39 (5), pp. 442-447, 1999を参照されたい〕。

【0021】好ましくは、本発明を、前記の有効量の医薬組成物を投与することを含む、成長ホルモンの不十分な分泌の症状1以上、又はそれとともに発生し、そしてそれによって悪化することのある状態1以上〔ここで、前記状態は、脆弱さ(frailty)、低血糖症、しわのよった肌、遅延した骨格成長、低下した免疫機能、低下した臓器機能、受胎能障害、骨疾患、エイズ関連症候群、悪液質、心不全、虚血性心臓疾患、結腸疾患、代謝障害、腎臓不全、筋ジストロフィー、及びターナー症候群から選択した障害である〕に対するヒトの治療方法に用いることができる。前記状態の多くがヒト以外の哺乳動物にも影響を与え、その状態の治療も本発明の実施の範囲内であるものと理解されたい。

【0022】更に好ましくは、本発明を、前記の有効量の医薬組成物を投与することを含む、ヒト以外の哺乳動物の成長及び能力を増加させるための治療方法に用いることができる。成長及び能力の増加は、例えば、飼料効率、乳収量及び受胎能の向上、並びに肉の引き締まり(leanness)の増加を含む。非常に好ましくは、本発明を、前記の投与量の医薬組成物を投与することを含む、成長ホルモン、ガストリン、又はグルカゴンの分泌を増幅することが必要な哺乳動物（ヒトを含む）

内において持続的ペースに基づいて成長ホルモン、ガストリン、又はグルカゴンの分泌を増幅することができる。本発明のこの実施態様によると、これらのホルモンの循環（又は局所的に必要とされる）濃度における人工的変動による生理学的に不利な影響を避けることができる。本発明の医薬組成物及び方法は、主に、「ヒト」及び「ヒト以外の哺乳動物」という用語を用いて説明されているが、当業者であれば、多くの観点から、本発明が鳥類（例えば、ニワトリ及び七面鳥）並びに魚類にも有用に実施可能であることを直ちに理解することができるであろう。

【0023】

【定義】本発明の実施に関して、全般的に、以下の定義を適用する。本明細書において用語「治療する（treating）」は、前記用語を適用する障害又は状態の進行を、逆転、緩和、若しくは阻害するか、又は予防することを意味する。本明細書において用語「治療（treatment）」は、「治療する」（前記と同じ意味）行為を意味する。本明細書において用語「アルキル基」は、特に断らない限り、直鎖状、分枝鎖状、又は環状の部分、又はそれらの組合せを有する1価の飽和炭化水素基を意味する。同様に、用語「アルケニル基」及び「アルキニル基」は、直鎖状、分枝鎖状、又は環状の部分、又はそれらの組合せを有し、それぞれ、二重結合少なくとも1個、又は三重結合少なくとも1個が存在する飽和炭化水素基を意味する。また、前記の定義は、別の基（例えば、アルコキシ基又はアルキルアミン）の中にアルキル基、アルケニル基、又はアルキニル基が存在する場合にも適用するものとする。

【0024】本明細書において用語「アルコキシ基」は、 O -アルキル基（「アルキル基」は、前記の意味である）を含む。本明細書において用語「ハロゲン原子」又は「ハロ」は、特に断らない限り、フッ素原子、塩素原子、臭素原子、又はヨウ素原子を含む。本明細書において「アリール基」は、特に断らない限り、アリール化合物の環炭素原子から基としての水素原子を除去することによって、単環式又は二環式芳香族（ C_6 - C_{10} ）炭化水素化合物から誘導される有機基を含む。アリール化合物は、場合により置換基1個以上で置換されていることがあり、ここで、各場合に存在することのある置換基の選択は、特に断らない限り、全ての別の場合に存在することのある置換基の選択と無関係であり、そして場合に存在することのある置換基の数は、好ましくは0～3、より好ましくは0～2の間である。置換基の好ましい数量が、合成の容易性によってある程度決定されることが認められよう。

【0025】本明細書において「ヘテロアリール」基は、ヘテロアリール化合物の環原子（前記環原子は、前記化合物中で無電荷である）から基としての水素原子を除去することによって、単環式又は二環式（ C_1 - C_9 ）

芳香族複素環式化合物から誘導される有機基を含む。ヘテロアリール化合物は、場合により置換基1個以上で置換されていることがあり、ここで、各場合に存在することのある置換基の選択は、特に断らない限り、全ての別の場合に存在することのある置換基の選択と無関係であり、そして場合に存在することのある置換基の数は、好ましくは0～3、より好ましくは0～2の間である。置換基の好ましい数量が、合成の容易性によってある程度決定されることが認められよう。ヘテロアリール基の代表例としては、フリル基、チエニル基、チアゾリル基、ピラゾリル基、イソチアゾリル基、オキサゾリル基、イソオキサゾリル基、ピロリル基、トリアゾリル基、テトラゾリル基、イミダゾリル基、1, 3, 5-オキサジアゾリル基、1, 2, 4-オキサジアゾリル基、1, 2, 3-オキサジアゾリル基、1, 3, 5-チアジアゾリル基、1, 2, 3-チアジアゾリル基、1, 2, 4-チアジアゾリル基、ピリジル基、ピリミジニル基、ピラジニル基、ピリダジニル基、1, 2, 4-トリアジニル基、1, 2, 3-トリアジニル基、1, 3, 5-トリアジニル基、ピラゾロ[3, 4-b]ピリジニル基、シンノリニル基、プテリジニル基、プリニル基、6, 7-ジヒドロ-5H-[1]ピリンジニル（pyrindiny）基、ベンゾ[b]チオフェニル基、5, 6, 7, 8-テトラヒドロキノリン-3-イル基、ベンゾオキサゾリル基、ベンゾチアゾリル基、ベンゾイソチアゾリル基、ベンゾイソオキサゾリル基、ベンゾイミダゾリル基、チアナフテニル基、イソチアナフテニル基、ベンゾフラニル基、イソベンゾフラニル基、イソインドリル基、インドリル基、インドリジニル基、インダゾリル基、イソキノリル基、キノリル基、フタラジニル基、キノキサリニル基、キナゾリニル基、及びベンゾオキサジニル基などを挙げることができる。

【0026】本明細書において「シクロアルキル」基は、特に断らない限り、単環式（ C_3 - C_{10} ）シクロアルキル化合物の環炭素原子から基としての水素原子を除去することによって、前記シクロアルキル化合物から誘導される有機基を含む。シクロアルキル基は、場合により置換基1個以上で置換されていることがあり、ここで、各場合に存在することのある置換基の選択は、特に断らない限り、全ての別の場合に存在することのある置換基の選択と無関係であり、そして場合に存在することのある置換基の数は、好ましくは0～3、より好ましくは0～2の間である。置換基の好ましい数量が、合成の容易性によってある程度決定されることが認められよう。シクロアルキル基の代表例としては、シクロプロピル基、シクロブチル基、シクロペンチル基、シクロヘキシル基、シクロヘプチル基、シクロプロペニル基、シクロブテニル基、シクロペンテニル基、シクロヘキセニル基、シクロヘプテニル基、1, 3-シクロブタジエニル基、1, 3-シクロペンタジエニル基、1, 3-シクロ

ヘキサジエニル基、1, 4-シクロヘキサジエニル基、1, 3-シクロヘプタジエニル基、1, 4-シクロヘプタジエニル基、1, 3, 5-シクロヘプタトリエニル基、ビシクロ [3. 2. 1] オクタン、ビシクロ [2. 2. 1] ヘプタン、及びそれらのノルボルン-2-エン不飽和形態を挙げることができる。従って、用語「シクロアルキル」は、二重結合 1 又は 2 個を有するシクロアルケニル基も含む。

【0027】本明細書において「ヘテロシクロアルキル」基は、特に断らない限り、単環式 (C_3-C_{10}) ヘテロシクロアルキル化合物の環原子から基としての水素原子を除去することによって、前記ヘテロシクロアルキル化合物から誘導される有機基を含む。ヘテロシクロアルキル基は、場合により置換基 1 個以上で置換されることがあり、ここで、各場合に存在することのある置換基の選択は、特に断らない限り、全ての別の場合に存在することのある置換基の選択と無関係であり、そして場合に存在することのある置換基の数は、好ましくは 0 ~ 3、より好ましくは 0 ~ 2 の間である。置換基の好ましい数量が、合成の容易性によってある程度決定されることが認められよう。ヘテロシクロアルキル基の代表例としては、ピロリジニル基、テトラヒドロフランニル基、ジヒドロフランニル基、テトラヒドロピラニル基、ピラニル基、チオピラニル基、アジリジニル基、オキシラニル基、メチレンジオキシニル基、クロメニル基、イソオキサゾリジニル基、1, 3-オキサゾリジン-3-イル基、イソチアゾリジニル基、1, 3-チアゾリジン-3-イル基、1, 2-ピラゾリジン-2-イル基、1, 3-ピラゾリジン-1-イル基、ピペリジニル基、チオモルホニル基、1, 2-テトラヒドロチアジン-2-イル基、1, 3-テトラヒドロチアジン-3-イル基、テトラヒドロチアジニル基、モルホリニル基、1, 2-テトラヒドロジアジン-2-イル基、1, 3-テトラヒドロジアジン-1-イル基、テトラヒドロアゼピニル基、ピペラジニル基、及びクロマニル基を挙げることができる。

【0028】本明細書において、「アリール」基、「ヘテロアリール」基、「シクロアルキル」基、及び「ヘテロシクロアルキル」基に関連する用語「場合により置換されていることのある」は、それに、化学的及び薬剤学的に許容することのできる官能基 1 個以上が結合することがあることを意味する。前記の基は、本発明化合物の薬剤としての生成、保存、又は使用に有用な特性に寄与するか、あるいは、少なくとも、それらの薬理学的活性を実質的に無効にしない。適当な前記置換基は、当業者が決定することができる。適当な置換基の典型例としては、以下に限定されるものでないが、ヒドロキシ基、ハロゲン原子、アミノ基、トリフルオロメチル基、カルボキシ基、(C_1-C_6) アルコキシ基、(C_1-C_6) アシルオキシ基、(C_1-C_6) アルキルアミノ基、[(C_1

- C_6) アルキル] ₂ アミノ基、(C_1-C_6) アシルアミノ基、シアノ基、ニトロ基、(C_1-C_6) アルキル基、(C_2-C_6) アルケニル基、(C_2-C_6) アルキニル基、(C_1-C_6) アシルアミノ基、シアノ (C_1-C_6) アルキル基、トリフルオロメチル (C_1-C_6) アルキル基、ニトロ (C_1-C_6) アルキル基、(C_1-C_3) アルキル (ジフルオロメチレン) (C_1-C_3) アルキル基、(C_1-C_6) アシルアミノ (C_1-C_6) アルキル基、(C_1-C_6) アルコキシ (C_1-C_6) アシルアミノ基、アミノ (C_1-C_6) アシル基、アミノ (C_1-C_6) アシル (C_1-C_6) アルキル基、(C_1-C_6) アルキルアミノ (C_1-C_6) アシル基、[(C_1-C_6) アルキル] ₂ アミノ (C_1-C_6) アシル基、(C_3-C_{10}) シクロアルキル (C_1-C_6) アルキル基、(C_1-C_6) アシルオキシ (C_1-C_6) アルキル基、(C_2-C_6) アルコキシ (C_1-C_6) アルキル基、ピペラジニル (C_1-C_6) アルキル基、(C_1-C_6) アシルアミノ (C_1-C_6) アルキル基、(C_6-C_{10}) アリール (C_1-C_6) アルコキシ (C_1-C_6) アルキル基、(C_2-C_6) ヘテロアリール (C_1-C_6) アルコキシ (C_1-C_6) アルキル基、(C_1-C_6) アルキルチオ (C_1-C_6) アルキル基、(C_6-C_{10}) アリールチオ (C_1-C_6) アルキル基、(C_1-C_6) アルキルスルフィニル (C_1-C_6) アルキル基、(C_6-C_{10}) アリールスルフィニル (C_1-C_6) アルキル基、(C_1-C_6) アルキルスルホニル (C_1-C_6) アルキル基、(C_6-C_{10}) アリールスルホニル (C_1-C_6) アルキル基、アミノ (C_1-C_6) アルキル基、(C_1-C_6) アルキルアミノ (C_1-C_6) アルキル基、(C_1-C_6) アルキル (ジフルオロメチレン) 基、(C_1-C_3) アルキル (ジフルオロメチレン) (C_1-C_3) アルキル基、(C_1-C_6) アルコキシ (C_1-C_6) アシル基、(C_6-C_{10}) アリール基、(C_2-C_6) ヘテロアリール基、(C_6-C_{10}) アリール (C_1-C_6) アルキル基、(C_2-C_6) ヘテロアリール (C_1-C_6) アルキル基、(C_6-C_{10}) アリール (C_6-C_{10}) アリール基、(C_6-C_{10}) アリール (C_6-C_{10}) アリール (C_1-C_6) アルキル基、(C_3-C_{10}) シクロアルキル基、(C_3-C_6) シクロアルキル (C_1-C_6) アルキル基、(C_3-C_{10}) ヘテロシクロアルキル (C_1-C_6) アルキル基、ヒドロキシ (C_2-C_6) アルキル基、(C_1-C_6) アシルオキシ (C_2-C_6) アルキル基、(C_1-C_6) アルコキシ (C_2-C_6) アルキル基、ピペラジニル (C_1-C_6) アルキル基、(C_1-C_6) アシルアミノ (C_1-C_6) アルキル基、(C_6-C_{10}) アリール (C_1-C_6) アルコキシ (C_1-C_6) アルキル基、(C_2-C_6) ヘテロアリール (C_1-C_6) アルコキシ (C_1-C_6) アルキル基、(C_1-C_6) アルキルチオ (C_1-C_6) アルキル基、(C_6-C_{10}) アリールチオ (C_1-C_6) アルキル基、(C_1-C_6) アルキルスルフィニル

(C_1-C_6) アルキル基、(C_6-C_{10}) アリールスルフィニル (C_1-C_6) アルキル基、(C_1-C_6) アルキルスルホニル (C_1-C_6) アルキル基、(C_6-C_{10}) アリールスルホニル (C_1-C_6) アルキル基、アミノ (C_1-C_6) アルキル基、(C_1-C_6) アルキルアミノ (C_1-C_6) アルキル基、及び [(C_1-C_6) アルキル]₂アミノ (C_1-C_6) アルキル基を挙げることができる。本発明の更なる観点、以下の「発明の実施の形態」によって説明する。

【0029】

【発明の実施の形態】本発明の実施によれば、細胞（例えば、下垂体前葉の細胞）からの成長ホルモン（GH）の分泌は、ソマトスタチンに誘発される（及びGタンパク質共役の）機構（これは、それ以外は、本質的に前記分泌を妨げるように作用する）を阻害することによって促進される。理論に限定するものではないが、これらのソマトスタチンに誘発される機構は、サイクリックAMP媒介シグナル及びカルシウムイオンの両方を妨げるように働く。なお、これはソマトスタチン誘発が無ければ、成長ホルモンを含有する細胞質顆粒構造の細胞膜との融合を高め、こうしてそれに続くGHの放出（分泌）を高める。本発明は、不十分なレベルの成長ホルモン（GH）又は成長ホルモン分泌に通常関与している数種の下流の（downstream）生理学的作用のいずれかの損傷によって、全体的に又は部分的に生じることがある年配者における脆弱さの治療に対する有効なアプローチを提供する。

【0030】GHは、成人における結合組織及び筋組織の維持に重要であり、また、筋量を増やすのにある程度役立つことがあると一般的に認識されている。このように、成長ホルモンは、成長ホルモンレベル自体が、例えば、弱さ、又は筋組織及び結合組織の減少の原因になっていない場合でさえ、年配の患者を手助けするのに用いることができる。本発明の実施は、GH分泌が不十分であるがGH分泌の向上に必要であることを証明することができる場合は、他の患者、例えば、子供に有益である。GH分泌の欠乏症、又はその結果としてのGH活性の欠乏は、いくつかの方法で発生することがある。例えば、GHをコードする遺伝子配列が核内で正常以下の量で発現されることがあり、得られるRNAの転写又は新生（nascent）ポリペプチドのプロセッシングが不完全であることがあり、又は細胞質GH貯蔵顆粒の細胞膜との融合（結果として生じるGHの放出）が不完全であることがある。更に、患者は、生物学的活性が低い突然変異タンパク質をコードするGH遺伝子の対立遺伝子を有していることがある。あるいは、GHRHの基本的な欠乏、又はGHRHレセプターにおける欠損（defect）、又はGHRPレセプターにおける欠損又はその内在性リガンドの欠乏が、それぞれのシグナル機構において存在することがある。更に、ソマトスタチンが

過剰になることがある。このような場合の全てにおいて、結果として生じる生理学的な欠乏は、本発明の医薬化合物の投与によって治療することができる。

【0031】本発明の別の観点において、ヒト以外の哺乳動物、例えば、家畜の能力及び成長速度は、本明細書に開示された化合物の適切な投与によって高められる。更に、コンパニオンアニマル、とりわけ年老いたコンパニオンアニマルも本発明の化合物の投与によって利益を受ける。適当な環境下で、ソマトスタチンアンタゴニストは、アゴニストの性質を示すことがあり、糖尿病の治療における有効な治療方法として認識されている。例えば、H. Gronbackら、Prog. Basic Clin Pharmacol. Basel, 10, 103~128頁、1996年を参照されたい。ソマトスタチンアゴニストは、例えば、糖尿病性網膜症、先端巨大症、慢性関節リウマチ、ニューロパシー性及び内臓性の痛み、過敏性腸症候群（irritable bowel syndrome）、クローン病の治療における有効な治療薬としても認識されており（WO98/44922参照）、ガンに関連した細胞増殖を阻害し、血管形成術後の再狭窄を予防するのにも有効である。

【0032】更に、sst2リガンドは、他のGタンパク質共役レセプター（例えば、メラノコルチン（melanocortin）レセプター、MCHレセプター、及びMCR4）に対する親和性を示すことができる。sst2リガンドは、MCHレセプターSLC1（ソマトスタチン様のレセプター1）がsst2に対して50%を超える相同性を示すので、そのMCHレセプターSLC1に対して親和性を示すであろうことも期待される。従って、本発明の化合物は、これらのレセプターによって媒介される医学的状態の治療、例えば、肥満、糖尿病メリタス（mellitus）、勃起不全、及び女性の性的不全の治療又は予防にも有効である。更に、本発明の化合物は、食欲及び代謝速度の調節にも有効である。とりわけ、本発明の化合物は、不適当な食物摂取及び体重減少に関連した病気／不調の治療として哺乳動物の食欲を刺激するのに、及び、例えば、家畜の新生児の成長及び生存性を高めるのに有効である。

【0033】本発明の化合物は、細胞の細胞質貯蔵顆粒から成熟成長ホルモンの放出を間接的に促進するように働くが、前記分泌を直接的に高めることができ、そして更に、細胞の核においてGHをコードするDNAの高められた発現を介することによって成長ホルモンの生産を間接的に高めることができる、別の治療物質が知られている。このことに関して、細胞質の貯蔵顆粒からGHを放出するように働く、成長ホルモン放出ペプチド（GHRP）及び成長ホルモン放出ホルモン（成長ホルモン放出性因子としても知られている、GHRH/GRF）の両方が言及されてきた。前記顆粒からのGHの放出は細胞中での追加的なGHタンパク質のシグナル誘発性（t

triggering) 生産として関係付けられてきたので、GHレベルが「プッシュプル」式のアプローチを用いて患者において適性に維持できることが期待される。

【0034】従って、本発明の更に好ましい態様は、本発明のソマトスタチン-アンタゴニスト化合物とGHRP又はGHRH、又は同様の効果を有する他の物質との併用投与を提供する。GHRP (又はGHRH) 単独による医学的治療は、以下の代表的な論文に記載されている。M. Thornerら, Journal Of Clinical Endocrinology And Metabolism, 81 (3), 1189~1196頁, 1996年; S. G. Cellaら, Peptides, 16 (1), 81~86頁, 1995年; M. A. Bachら, Journal Of The American Geriatrics Society, 44 (9), S10, 1996年; 及びJ. A. Aloiaら, Journal Of Clinical Endocrinology And Metabolism, 79 (4), 943~949頁, 1994年。

【0035】更に、成長ホルモンはきわめて不安定であり、体内におけるその半減期はきわめて短いので、成長ホルモンの循環レベルの広い振幅を避ける、成長ホルモン自体の直接的投与のための安全な投与プログラムを提供することは困難である。成長ホルモンの直接投与のための現行の持続的放出技術に改良を加えることができる。このことに関して、単に間接的にGHレベルを上げることのみによって、このホルモンの放出のプロフィールは、体内に固有の調節的フィードバック系の制御下に、少なくとも部分的にそのまま残り、そして循環するGHレベルの変動はしばらく抑えられるので、本発明の実施は、臨床医にとってとりわけ有用である。更に、本発明の化合物は、それ自体で、持続的な放出機構によって投与することができる。患者が時々不注意に投与を抜かすことがあることも認識されており、例えば、浸透性システムを含む、消化管を介した連続的投与を提供する種々の技術が存在している。このことに関して、本発明の医薬組成物は、好ましくは、米国特許第4,612,008号に開示された技法に従って投与される。

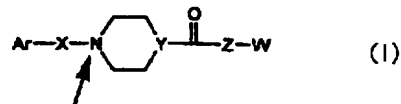
【0036】本発明の好ましい実施において、化合物は、他のレセプターサブタイプ、例えば、sst1、sst3、sst4及びsst5に比べてsst2レセプターに対する選択性を示す。この選択性は、成長ホルモン分泌がアップレギュレートされ続けている間、他の分子の生物学的又は生化学的経路が逆方向に影響を受ける機会を最小にしている。最も好ましくは、sst2タイプレセプターに対する化合物の親和性は、他のsstサブタイプのレセプターに対するより少なくとも約10倍以上である。本発明の化合物は、sstタイプのレセプターにおける相互作用に無関係な機構を含む、一つ以上の機構によって働くことができ、そして本明細書で特別

には言及しない他の病気の治療における用途を含む、本発明の実施における本発明の化合物の利用は、本明細書に記載の任意の特定理論又は当業者に一般的に認識されている理論によって限定されるものではないことに留意されたい。

【0037】更に、本発明の化合物は、sst2以外のsstタイプのレセプターと有利に相互作用することができ、sst2又は他のsstタイプのレセプターにおいて、アンタゴニストというよりむしろソマトスタチンアゴニストとして作用することにより治療上の利益を提供することができる。前記のように、本発明の化合物は、全ての配座異性体 (例えば、シス及びトランス異性体、いずれにせよ二重結合を含んでいる)、互変異性体、及び式(I)で表される化合物の全ての光学異性体 (例えば、エナンチオマー及びジアステレオマー)、並びに前記全ての異性体のラセミ混合物、ジアステレオマー混合物、及び他の混合物を含んでいる。本発明の化合物の設計に関して、配座異性及び光学異性などの特有の特徴は、注目すべきである。

【0038】前出の一般式に関連して、特有の構造的特徴は注目すべきである。式(I)：

【化26】



において、矢印で示された位置は、常に窒素原子である。XがCHR'基 [式中のR'は(C₁-C₆)アルキル基である] 又はCR'¹R'²基 [式中のR'¹及びR'²は独立して(C₁-C₆)アルキル基である] である場合、好ましくは、前記アルキル基は、メチル基又はエチル基である。

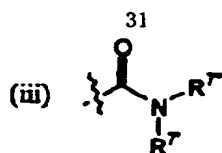
【0039】更に、1個又はそれ以上のハロゲン基による置換がさらに可能である場合、好ましい例は2個又は1個のハロゲン原子によるものである。好ましくは、前記ハロゲン原子は、塩素原子及びフッ素原子から選択される。基Wに関して、選択枝(b)の場合において、好ましい例では、R'²、R'⁴及びR'⁵はそれぞれ水素原子である。また、基Wに関して、選択枝(b)の場合において、好ましい例では、R'³は選択枝(ii)：

【化27】



又は選択枝(iii)：

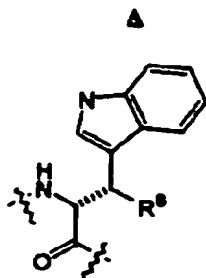
【化28】



【それぞれの式中、 R^6 、 $R^{7'}$ 及び $R^{7''}$ は、存在する場合には、 $(C_1 - C_6)$ アルキル基、例えば、メチル基、エチル基、及び t -ブチル基である】から選ばれる。

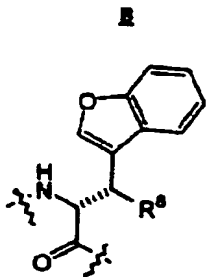
【0040】基 Z について、基 Z は、式 A :

【化 29】



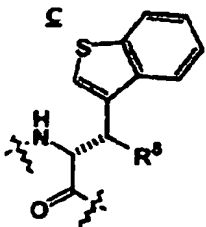
で表される基、式 B :

【化 30】



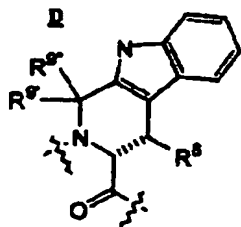
で表される基、式 C :

【化 31】



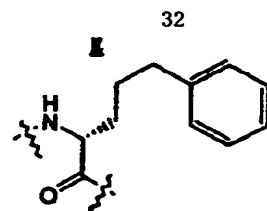
で表される基、式 D :

【化 32】



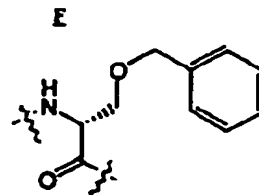
で表される基、式 E :

【化 33】



で表される基、及び式 F :

【化 34】



で表される基からなる群から選択した基であり、そして前記のそれぞれの式において、 R^6 は、存在する場合には、水素原子、又は $(C_1 - C_6)$ アルキル基、好ましくはメチル基又はエチル基である。

【0041】前記のように、 $R^{6'}$ 及び $R^{6''}$ は、存在する場合には、水素原子、 $(C_1 - C_6)$ アルキル基、 $(C_1 - C_6)$ ヘテロアリール $(C_1 - C_6)$ アルキル基、及び $(C_6 - C_{10})$ アリール $(C_1 - C_6)$ アルキル基から選ばれる。本発明の更に別の態様に従い、基 Z は、本明細書中で特に断らない限りは、より広く定義する (基 Z') ことができる。基 Z' において、前記に例示した Z の $(C_1 - C_6)$ ヘテロアリール基 (すなわち、インドール、ベンゾフラン、及びベンゾチオフェン) は、前記したその定義内にある任意の他の $(C_1 - C_6)$ ヘテロアリール基 (これも、場合により置換されていることができる) と置き換えられる。基 Z' と同様に、前記に例示した $(C_6 - C_{10})$ アリール基 (フェニル基) は、ナフチル基 (これも、場合により置換されていることができる) に置き換えることができる。

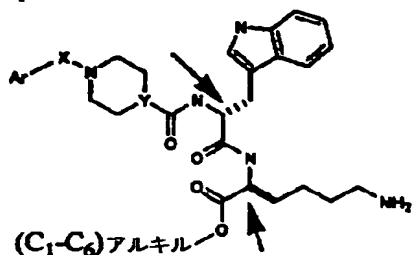
【0042】本発明の別の態様において、置き換えた $(C_1 - C_6)$ ヘテロアリール基又は $(C_6 - C_{10})$ アリール基の基 Z' の残部への結合は、1 個より多い結合であることができる (前記構造式 D を参照されたい)。本発明の別の化合物において、 R^6 は、 $(C_1 - C_6)$ アルキル基又はフェニル (CH_2) - 基であり、前記アルキル基又はフェニル基は場合により 1 個又はそれ以上のハロゲン原子又はトリフルオロメチル基で置換されている。用語「トリフルオロメチル」が本発明の化合物の部分に記述するのに用いられる場合は、常に、前記の語は、トリフルオロメチルが好ましいと理解されるが、任意のトリフルオロ $(C_1 - C_6)$ アルキル基を含んでも理解されるべきであることにも留意されたい。また、一般的に、1 個又はそれ以上のトリフルオロメチル基による置換が許される場合は、ただ 1 個のトリフルオロメチル基の挿入が好ましい。

【0043】本発明の化合物の設計に関して、配座異性

33

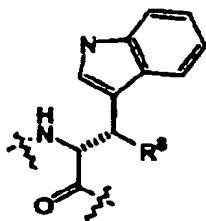
及び光学異性を含む特有の特徴は、注目に値する。下記の代表的構造式：

【化 35】



において、特有の絶対配置を維持することが大変に好ましい場合は、2つの矢印はキラル中心を示している。前記化合物は、成分リシン残基及び成分トリプトファン残基を含んでいると理解されるであろう。この化合物の合成において、D-トリプトファン及びL-リシンを用いた。本発明の他の化合物において、例えば、他の基Z、基W及び基R等が用いられる場合に、矢印で示された位置で、これらのアミノ酸光学異性体によって与えられた絶対配置が維持されることは大変に好ましいことである。例えば、D-トリプトファンは、D-ヒスチジン、環置換されたD-トリプトファン、又はより好ましくは式：

【化 36】

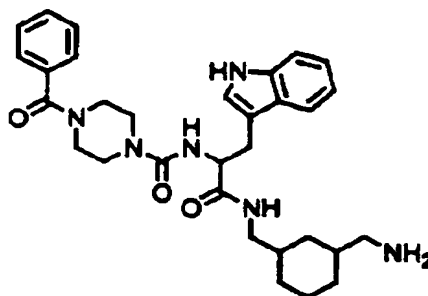


〔式中、R⁶は(C₁-C₆)アルキル基である〕で表される構造体によって置き換えることができる。

【0044】更に、選択枝(b)の場合の基Wの一例であるL-リシン基は、L-リシンの(C₁-C₆)アルキルエステル、L-オルニチン、L-2,4-ジアミノ酪酸、L-5-ヒドロキシリシン、L-エプシロン(epsilon)-N-メチルリシン等、又は前記化合物の(C₁-C₆)アルキルエステルによって置き換えることができる。あるいは、前記L-リシン基は、基W〔選択枝(a)の場合の部分〕によって置き換えられ、医薬化合物、例えば式：

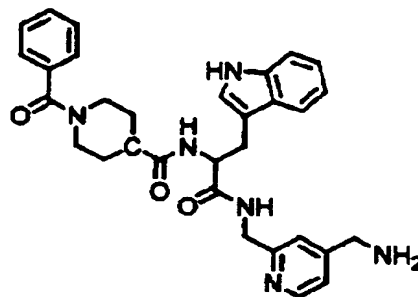
【化 37】

34



で表される化合物、及び式：

【化 38】



で表される化合物を導くことができる(反応工程式3A又は3Bを参照されたい)。

【0045】更に、本発明の化合物の基の多くは、場合により置換されていることができる。前記のように、前記置換基は、本発明化合物の薬剤としての製造、保存、又は使用に有用な性質を与えるものであるか、又は少なくともその薬剤活性を実質的に無効にするものではない。任意の置換基の選択は、更に、当業者に認識されている原理によって導かれるものであり、及び/又は本明細書に記載のアッセイを用いて確実なものにすることができると理解されるよう。

【0046】

【医薬製剤】本質的に塩基性である本発明の化合物は、種々の無機酸及び有機酸と広い種類の異なる塩を形成することができる。前記塩は動物に投与するために薬剂的に許容することができるものでなければならないが、薬剂的に許容することができない塩として反応混合物から本発明の化合物を最初に単離し、次いで単純にその薬剂的に許容することができない塩をアルカリ性の試薬で処理することによって遊離の塩基化合物に転換して戻し、引き続いてその遊離の塩基を薬剂的に許容することができる酸付加塩に転換することが実際的にしばしば望ましい。本発明の塩基化合物の酸付加塩は、例えば、その塩基化合物を実質的に等量の選ばれた鉱酸又は有機酸を用いて水性溶媒媒体中で又は適当な有機溶媒、例えば、メタノール又はエタノール中で処理することによって、容易に製造される。溶媒を注意深く蒸発させた後、所望の固体の塩が容易に得られる。所望の酸性の塩

も、有機溶媒中の遊離塩基の溶液から、その溶液に適当な鉱酸又は有機酸を添加することによって沈殿させることができる。

【0047】本質的に酸性である本発明の化合物は、種々の薬理学的に許容することができるカチオンを用いて塩基性塩を形成することができる。例えば、前記塩として、アルカリ金属塩又はアルカリ土類金属塩、とりわけ、ナトリウム塩及びカリウム塩を挙げることができる。これらの塩は全て常法によって製造される。本発明の薬剤学的に許容することができる塩基塩を製造するために試薬として用いられる化学的塩基物質は、本発明の酸性化合物と無毒な塩基塩を形成することができる物質である。前記無毒な塩基塩として、薬理学的に許容することができるカチオン（例えば、ナトリウム、カリウム及びマグネシウム等）から誘導された塩基塩を挙げることができる。これらの塩は、所望の薬理学的に許容することができるカチオンを含有する水溶液を用いて対応する酸性化合物を処理し、次いで得られた溶液を、好ましくは減圧下で、蒸発乾固することにより容易に製造することができる。あるいは、これらの塩は、酸性化合物の低級アルカノール溶液と所望のアルカリ金属アルコキシドとを一緒に混合し、次いで得られた溶液を前記と同じ方法で蒸発乾固することによっても製造することができる。いずれの場合も、反応の完全性及び所望の最終製品の最大収率を確実にするため、化学量論的量の試薬を用いるのが好ましい。

【0048】本発明の好ましい例において、本発明の化合物は、直接又は間接に（１）追加の成長ホルモン又はその前駆体ポリペプチドの細胞における生産及び貯蔵を促進するか、又は（２）GHの放出を促進する、追加の薬剤学的に活性な物質と配合することができる。前記追加の物質として、成長ホルモン放出ペプチド（GHRP）、成長ホルモン放出ホルモン（GHRH）、下垂体アデニル酸シクラーゼ活性化ポリペプチド（PACAP）、ドーパミン作用のアゴニスト（例えば、プロモクリプチン）、ベーターアドレナリン作用のアゴニスト（例えば、イソプロテレノール）、及びアルファ１-アドレナリン作用のアゴニスト（例えば、メトキサミン）を挙げることができる。その技術背景的情報は、E. O.

Soyoolaら, *Proceedings of the Society for Experimental Biology & Medicine*, 207 (1), 26~33頁, 1994年; V. Locatelliら, *Pediatric Research*, 36 (2), 169~74頁, 1994年; 及びB. Velkeniersら, *Journal of Endocrinology*, 143 (1), 1~11頁, 1994年を参照されたい。同等に、追加の薬剤学的に活性な物質を、併用投与されるか、又は治療期間のいくつかの別の時点で投与される、分割された製剤として提供す

ることができる。

【0049】本発明は、式（Ⅰ）で表される化合物のプロドラッグを含有する医薬組成物も包含している。本発明は、式（Ⅰ）で表される化合物のプロドラッグを投与することを含む、ソマトスタチンの量を減少させることによって治療又は予防することができる疾患を治療又は予防する方法も包含している。遊離のアミノ基、アミド基、ヒドロキシ基、又はカルボキシル基を有する式

（Ⅰ）で表される化合物は、プロドラッグに変換することができる。プロドラッグとして、一個のアミノ酸残基、又は２個以上（例えば、２個、３個又は４個の）アミノ酸残基のポリペプチド鎖が、式（Ⅰ）で表される化合物の遊離のアミノ基、ヒドロキシル基又はカルボン酸基へのペプチド結合を介して共有結合している化合物を挙げることができる。アミノ酸残基として、３文字記号で通常表記される２０個の天然に存在するアミノ酸を挙げることができ、また、４-ヒドロキシプロリン、ヒドロキシリシン、デモシン（demosine）、イソデモシン（isodemosine）、３-メチルヒスチジン、ノルバリン、ベーターアラニン、ガンマーアミノ酪酸、シトルリン、ホモシステイン、ホモセリン、オルニチン、及びメチオニンスルホンも挙げることができる。また、プロドラッグとして、カルボネート、カルバメート、アミド、及びアルキルエステルが、カルボニル炭素プロドラッグ側鎖を介して式（Ⅰ）の前記置換基に共有結合している化合物も挙げることができる。

【0050】この分野における通常の技術の一つに照らせば、本発明の化合物を特定の病気の治療に用いる場合、本発明の化合物を、その病気、又は同時に生じることがある代謝的に関連するか又は関連しない他の病気の状態に対して用いられている種々の現行の治療剤と組み合わせることができるということも、当業者には理解されるところであろう。前記のように、追加の薬剤学的に活性な物質は、併用投与されるか、又は治療期間中のいくつかの他の時点で投与される別の製剤として提供することができる。本発明の化合物は、現行の治療剤、例えば、成長ホルモン欠損症治療用の前記の成長ホルモン分泌促進薬と組み合わせることもできる。成長ホルモン欠損症の治療に、本発明の化合物は、薬剤、例えば、Genentech及びライセンシー [ニュートロピン (Neutropin)、ジェノトロピン (Genotropin)、及びプロトロピン (Protropin)]、Bio-Technology General及びライセンシー [ゾマクトン (Zomacton)、グロージェクト (Growject)、エルベチウム (Elvetium)、及びサイトロピン (Scitropin)]、NovoNordisk [ノルジトロピン (Norditropin)]、LG Chem [ユートロピン (Eutropin)]、Ares Serono [セーゼン (Saizen) 及びセロスチム

(Serostim)]、Eli Lilly Co [ヒューマトロプ (Humatrope)]、Monsanto [ウシ成長ホルモンのポシラック (Posilac) ブランド]、及び Alphama [ブタ成長ホルモンのレポルシン (Reporcin) ブランド] によって市販されている組換え成長ホルモンと組み合わせることができる。

【0051】本発明の化合物は、現行の治療剤 [例えば、ジェレフ (Geref) [セルモレリン (sermorelin)、GHRH] ; Serono Laboratories Inc] と組み合わせて用いることもできる。本発明の化合物は、現行の治療剤、例えば、同化作用のステロイド、例えば、アンドロイソキサゾールアンドロスタノロン (androisoxazolandrostanolone) [DHT、ジヒドロテストステロン、スタノロン (Stanolone)、アナボレックス (Anabolex)、アンドラクトリム (Andractrim)]、ボランジオール (bolandiol)、ボラステロン (bolasterone)、ボラジン (bolazin)、ボルデノン [エキポイズ (Equipoise)]、カルステロン、クロステボール (clostebol) [クロルテストステロン (chlortestosterone)、ステラナボール (Steranabol)、アルファ・トロホダーミン (Alfa Trofodermin)、ダーマナボール (Dermanabol)、トロホダーミン (Trofodermin)、トロホセプチン (Trofoseptine)]、ダナゾール [シクロメン (Cyclomen)、ダノクリン (Danocrin)]、デヒドロクロロメチルテストステロン [ツリナボール (turinabol)、オーラルーツリナボール (Oral-turinabol)]、ドロスタノロン (drostanolone) [ドロモスタノロン、ドルルバン (Drolban)、マステリド (Masterid)、マステリル (Masteril)、マステロン (Masteron)、メトルモン (Metormon)、プレマストリル (Premastriol)]、エストラジオール、エチルエストレノール、フルオキシメステロン (fluoxymesterone) [ハロテストチン (Halotestin)、オーラーテストリル (Ora-Testryl)、アンドロイド-F (Android-F)]、ホルメボロン (formeboleone)、フラザボル (furazabol) [ミオトロン (Mioto lon)]、メスタノロン、メステロロン (mesterolone) [プロビロン (Proviron)、プルリビロン (Pluriviron)]、メタンジエノン [メタンドロステノロン、メタボリン (Metaboline)]、メタンドリオール、メテノロン (methenolone) [プリモボラン (Primobolan)]、メチルテストステロ

ン [メタンドレン (Methandren)、メチルテストステロンを有するプレマリル (Premarin)、アンドロイド (Android)、オレトン (Oreton)、テストレッド (Testred)、メチルテストステロン・タブス (Methyltestosterone tabs)、グリーボンズ (Geri-Bons)、グリータブス (Geri-tabs)、ダーモナル (Dermonal)]、ミボレロン (mibolerone) [シエック (Cheque)]、ナンドロロン [デカーデュラボリン (Deca-Durabolin)、デュラボリン (Durabolin)、ナンドラボリン (Nandrabolin)、アナボリン (Anabolin)、アンドロロン (Androlone)、ハイボリン (hybolin)、ナンドロボリック (Nandrobolic)]、ノルクロステボール (norchlostebol)、ノルエタンドロロン [ナイルバー (Nilevar)]、オキサボロン (oxabalone)、オキサンドロロン [アナバー (Anavar)]、オキシメステロン [オラナボル (Oranabol)]、オキシメトロン [アナポロン (Anapolon) 50、アンドロイド (Androyd)、アナドロール (Anadrol)、アナステロン (Anasteron)、ダイナステン (Dynastan)、オキシトソナ (Oxitosona)、プレナストリル (Plenastriol)、シナスステロン (Synasteron)、ゼナロシン (Zenalosyn)]、ペンメステロール (penmesterol)、プラステロン (prasterone)、キンボロン (quinbolone)、スタノゾロール [ウィンストロール (Winstrol)、ウィンストロール-V (Winstrol-V)、ストロンバ (Stromba)、ストロンバジェクト (Strombaject)]、ステンボロン (stenbolone)、テストステロン [マロジェン (Malogen)、デラテストリル (Delatestryl)、ネオポーズ (Neopause)、PMS-テストステロンエナンテート (Enanthate)、アンドリオール (Andriol)、デュオジェックス (Duogex)、クリマクテロン (Climacteron)、オーキステロン (Orchisterone) -P、オレトン (Oreton)、アナジオール (Anadiol)、アナテスト (Anatest)、テストス (Testos) -100、ハイファアーエイド (Heifer-aid)、シノベックス (Synovex) -H、チボロン (tibolone)、trenbolone) [パラボラン (Parabolan)、フィナジェクト (Finaject)]、又はゼラノール (zeranol) と組み合わせて用いることもできる。

【0052】本発明の化合物は、現行の治療剤、例えばソマゾン (Somazon) [メカセルミン (meca

sermin)、組換えインスリン様成長因子1] (Fujisawa製)と組み合わせて用いることもできる。骨粗しょう症をもった年配の患者の治療に対して、本発明の化合物と組み合わせて用いられる適当な剤として、標準的な非ステロイドの抗炎症剤(以下、NSAID's)、例えば、ピロキシカム、ジクロフェナック(diclofenac)、プロピオン酸[例えば、ナプロキセン、フルビプロフェン(flubiprofen)、フェノプロフェン、ケトプロフェン、及びイブプロフェン]、フェナメート(fenamates)[例えば、メフェナム酸(mefenamic acid)、インドメタシン、スリンダク、アパゾン、ピラゾン[例えば、フェニルブタゾン]、サリチレート[例えば、アスピリン]、COX-2阻害剤[例えば、セレコキシブ(celecoxib)及びロフェコキシブ(rofecoxib)]、鎮痛薬及び関節内療法[例えば、コルチコステロイド]、並びにヒアルロン酸[例えば、ヒアルガン(hyalgan)及びシンビスク(synvisc)]を挙げることができる。

【0053】本発明の化合物は、骨粗しょう症剤、例えば、ラソホキシフェン(lasofloxifene)、ラロキシフェン(raloxifene)、ドロロキシフェン(droloxifene)、又はホソマックス(fosomax)、及び免疫阻害剤[例えば、FK-506及びラパマイシン(rapamycin)]と組み合わせて用いることもできる。本発明の化合物は、低下した免疫機能の治療に、免疫刺激剤と組み合わせて用いることもできる。本発明の化合物は、不妊症の治療に、交配因子、例えば、ヒト閉経期ゴナドトロピン、絨毛膜ゴナドトロピン、小胞刺激ホルモン、ナファレリン(nafarelin)、トリプトレリン(triptorelin)、セトロレリックス(cetrorelix)、及びガニレリックス(ganirelix)と組み合わせて用いることもできる。

【0054】本発明の化合物は、エイズ関連症候群の治療にAIDS治療薬と組み合わせて用いることもできる。本発明の化合物は、悪液質の治療に、抗腫瘍壊死因子剤、例えば、インフリキシマブ(infliximab)(TNFモノクローナル抗体)又はエタナーセプト(etanercept)(可溶性TNFレセプター)と組み合わせて用いることもできる。本発明の化合物は、心臓病の治療に、カリウムチャンネル遮断剤、ベータ遮断剤、抗凝固薬又は血管拡張薬と組み合わせて用いることもできる。本発明の化合物は、腎不全の治療にアンジオテンシン(angiotensin)II(ATII)アンタゴニスト又はエリスロポエチンと組み合わせて用いることもできる。

【0055】家畜への投与に対して、本発明の化合物は、飼料添加物、例えば、抗生物質[例えば、モネンシン(monensin)、ラサロシド(lasaloc

id)、サリノマイシン(salinomycin)、セムデュラマイシン(semduramicin)、ナラシン(narasin)、マデュラマイシン(maduramicin)、バージニアマイシン(virginiamycin)、ポリミキシン(polymixin)、エフロトマイシン(efrotomycin)、アボパルシン(avoparcin)、リンコマイシン、バシトラシン、バンベルマイシン(bambermycin)、ノボビオシン、エリスロマイシン、オレアンドマイシン、ストレプトマイシン、タイロシン(tylosin)、ペニシリン、テトラサイクリン、オキシテトラサイクリン、クロロテトラサイクリン、カルバドックス、オラキンドックス(olaquinox)、ネオマイシン、モエノマイシン(moenomycin)、アビラマイシン(avilamycin)、及びフラボホスホリポリ(flavophospholipol)、分配剤(repartitioning agents)、ベータアゴニスト[例えば、ペイリーン(Paylean)、ラクトパミン(ractopamine):エランコ(Elanco)製]、及びさらにアミテロール(amiterol)、バンブテロール(bambuterol)、ビトルテロール、ブロキサテロール(broxaterol)、ブフェニン(buphenine)、カルブテロール、シマテロール(cimaterol)、クレンブテロール(clenbuterol)、クロルブレナリン、コルテロール(colterol)、デノパミン(denopamine)、ジオキセテドリン(dioxethedrine)、ジオキシフェドリン(dioxifedrine)、ドブタミン、ドベキサミン(dopexamine)、ドキサミノール(doxaminol)、エタンテロール(etanterol)、フェノテロール(fenoterol)、フレロブテロール(flerobuterol)、ホルモテロール(formoterol)、ヘキソブレナリン(hexoprenaline)、イブテロール(ibuterol)、イモキシテロール(imoxiterol)、イソエタリン、イソクスブリン、レビスブレナリン(levisoprenaline)、マブテロール(mabuterol)、メスブリン(mesuprine)、メタテロール(metaterol)、メトキシフェナミン、ナルデテロール(nardeterol)、オルシブレナリン、ピクメテロール(picumeterol)、ピルブテロール、プレナルテロール(prenalterol)、プロカテロール(procaterol)、プロトキロール、キンブレナリン(quinprenaline)、リミテロール(rimiterol)、リトドリン、サルブタモール、サルメテロール(salmeterol)、テルブタリン、トレトキノール(tretoquinol)、ツロブテロール(tulobuter

ol)、キサモテロール(xamoterol)、及び
ジルパテロール(zilpaterol)と組み合わせ
て用いることもできる。

【0056】本発明の化合物は、薬剤学的に許容する
ことができる1種又はそれ以上の担体を用いて常法により
製剤化することができる。このように、本発明の活性化
化合物は、経口、経類(buccal)、鼻内、非経口
(例えば、静脈内、筋肉内又は皮下)又は直腸の投与に
対して、又は吸入法又は通気法による投与に適した形
で、製剤化することができる。本発明の活性化化合物
は、持続した放出用に製剤化することもできる。経口投
与に対して、本発明医薬組成物は、例えば、薬剤学的に
許容することができる賦形剤、例えば、結合剤(例え
ば、予めゼラチン化したトウモロコシデンプン、ポリビ
ニルピロリドン又はヒドロキシプロピルメチルセルロー
ス)；充填剤(例えば、ラクトース、微晶性セルロース
又はリン酸カルシウム)；潤滑剤(例えば、ステアリン
酸マグネシウム、タルク又はシリカ)；崩壊剤[例え
ば、ポテトデンプン又はデンプングリコール酸ナトリウ
ム(sodium starch glycolate)]；又は湿潤剤(例えば、ラウリル硫酸ナトリウ
ム)を用いて常法により製造される錠剤、かみ砕き(c
hewable)錠剤、又はカプセル剤の形をとること
ができる。錠剤は、当業者に周知の方法によりコートす
ることができる。経口投与のための液体製剤は、例え
ば、溶液、シロップ又は懸濁液の形をとることができ、
又は、使用前に水又は他の適当な担体と構成するように
乾燥製品として提供することができる。前記液体製剤
は、薬剤学的に許容することができる添加物、例えば、
懸濁剤(例えば、ソルビトールシロップ、メチルセルロ
ース又は水素化した食用脂)；乳化剤(例えば、レシチ
ン又はアラビアゴム)；非水性担体(例えば、アーモン
ドオイル、油性エステル又はエチルアルコール)；及び
保存剤(例えば、メチル又はプロピルp-ヒドロキシベン
ゾエート又はソルビン酸)を用いて常法により製造す
ることができる。

【0057】経類投与に対して、本発明組成物は、常法
により製剤化し、又はペットフード又は動物飼料とブレ
ンドし、又は動物飼料とのブレンド用のプレミックスと
して、錠剤又はロゼンジの形をとることができる。本発
明の活性化化合物は、注射(従来のカテーテル法又は注入
を用いることを含む)による非経口投与に対して製剤化
することができる。注射用の製剤は、保存剤を添加し
て、単位投与形態で(例えば、アンプルで又は複数回投
与の容器で)提供することができる。本発明組成物は、
油性又は水性の担体中の懸濁液、溶液、又はエマルジョ
ンのような形をとることができ、そして配合剤、例え
ば、懸濁剤、安定剤、及び/又は分散剤を含んでいるこ
とができる。あるいは、活性成分は、使用前に、適当な
担体(例えば、滅菌したピロジェンフリーの水)で再

構成する粉末形態であることができる。

【0058】本発明の活性化化合物は、例えば、通常の座
剤基材(例えば、カカオバター又は他のグリセリド)を
含有する、直腸用の組成物(例えば、座剤又は保留浣腸
剤(retention enemas))として製剤
化することもできる。鼻内投与又は吸入法による投与に
対して、本発明の活性化化合物は、便利には、適当な噴射
剤(例えば、ジクロロジフルオロメタン、トリクロロジ
フルオロメタン、ジクロロテトラフルオロエタン、二酸
化炭素又は他の適当なガス)を用いて、患者によって圧
縮されるか又はポンプ操作されるポンプスプレー容器か
ら溶液又は懸濁液の形で、又は加圧された容器又はネブ
ライザーからのエーロゾルスプレー提供物として、放出
される。加圧されたエーロゾルの場合、投与単位は、計
測された量を放出する弁を設けることによって決めるこ
とができる。加圧された容器又はネブライザーは、本発
明活性化化合物の溶液又は懸濁液を含んでいることがで
きる。吸入器又は通気器に用いるカプセル又はカートリ
ッジ(例えば、ゼラチン製)は、本発明の化合物と適当な
粉末基材、例えば、ラクトース又はデンプンとの粉末混
合物を含有して作ることができる。

【0059】平均的な成人に対して経口、非経口、又は
経類投与するための本発明の活性化化合物の推奨量は、
単位投与当たり活性成分0.1~100mgであり、こ
の量を、例えば、1日に1~4回にわたって投与するこ
とができる。平均的な成人における前記に言及した状態
の治療に対するエーロゾル製剤は、エーロゾルの計量さ
れた各投与単位又は「ひと吹き(puff)」が本発明
の化合物を20μg~1000μg含んでいるように調
整するのが好ましい。エーロゾルを用いた1日の総投与
量は、0.1mg~100mgの範囲である。投与は、
例えば、各回毎に1投与単位、2投与単位、又は3投与
単位を与えるとして、1日に数回、例えば、2、3、
4、又は8回であることができ、。注射量は、個々の投
与量0.01~1mg/Kg(の活性成分)で、1月に
約1回から、1日に約1~4回までを投与することが好
ましく、例えば、筋肉内、静脈内、又は皮下であること
ができる。

【0060】十分に認識されているように、その投与の
正確な量、及び方法及びタイミングは、当業者によつ
て、及び治療用化合物の活性、その製剤の特性、標的組
織の性質及び位置、及び特定の患者に存在する病気の状
態の詳細を含む多数の因子に応じて、決定することがで
きる。更に、本発明の化合物を追加の薬剤学的に活性化
物質と共に患者に投与する場合、医薬組成物1種以上を
用いて活性剤の全てを投与することができ、それらは、
製薬又は医療の当業者によって決められるように、一緒
に又は別の時点で投与することができる。下記の反応工
程式は、本発明の化合物の製造を示すものである。生成
物が形成される場合、反応体の所定の官能基が定義によ

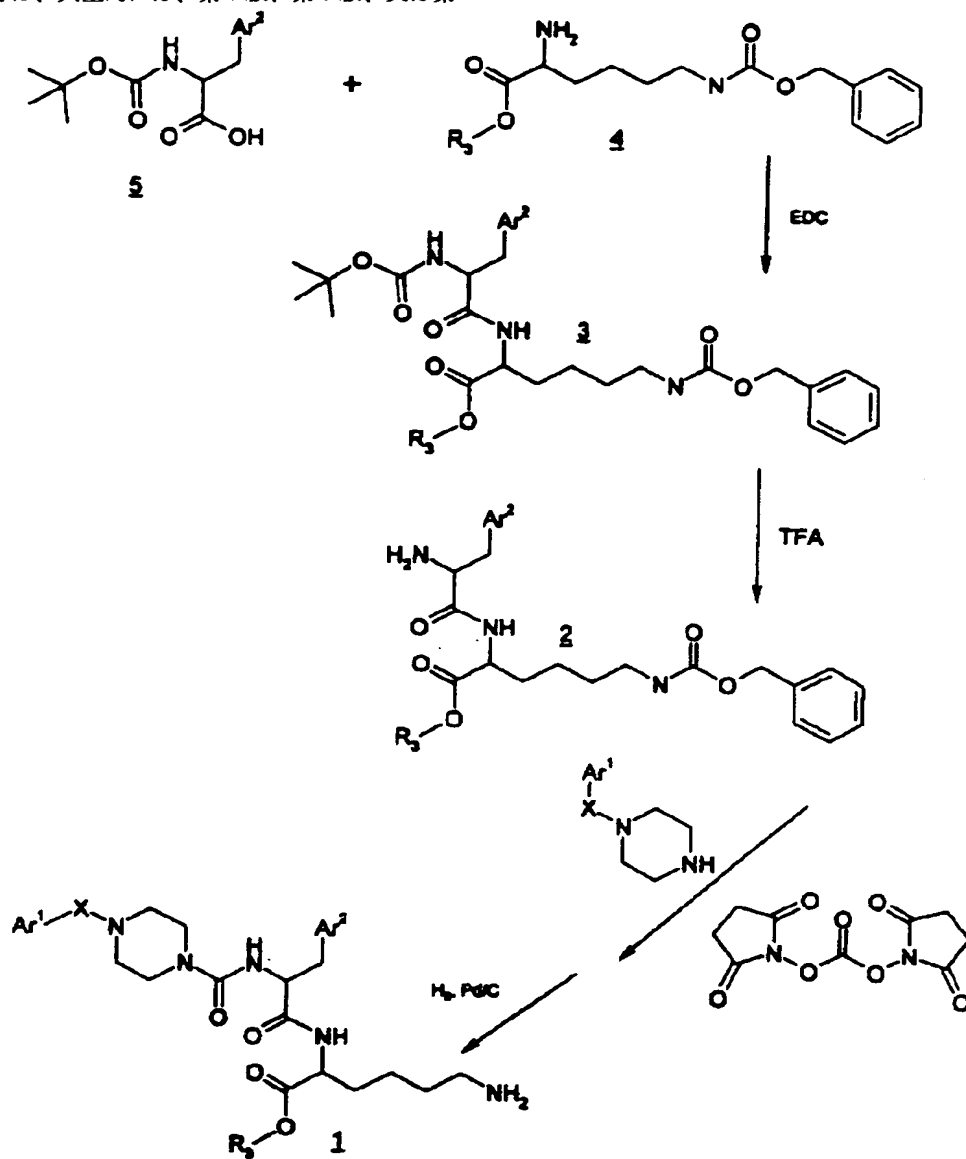
って変化することから、反応工程式において文字

(「R」基等)で表される所定の基が、前記式(1)で表される化合物自体の同様に定義された構成成分である基と常に対応するものではないことが理解されよう。例えば、 Ar^2 は、前記で定義した式(1)の任意の基Zの適切な部分に対応しているが、但し、基Zは、前記のように基Z'として定義することもできることに留意されたい。 R_3 は、典型的には、第1級、第2級、又は第

3級の(C_1-C_6)アルキル基を表しているが、他の基、例えば、(C_6-C_{10})アリール基又はベンジル基であることもできる。基 Ar^1 は、式(1)の基 Ar の定義に対応している。X基は、式(1)の定義と同じ意味である。

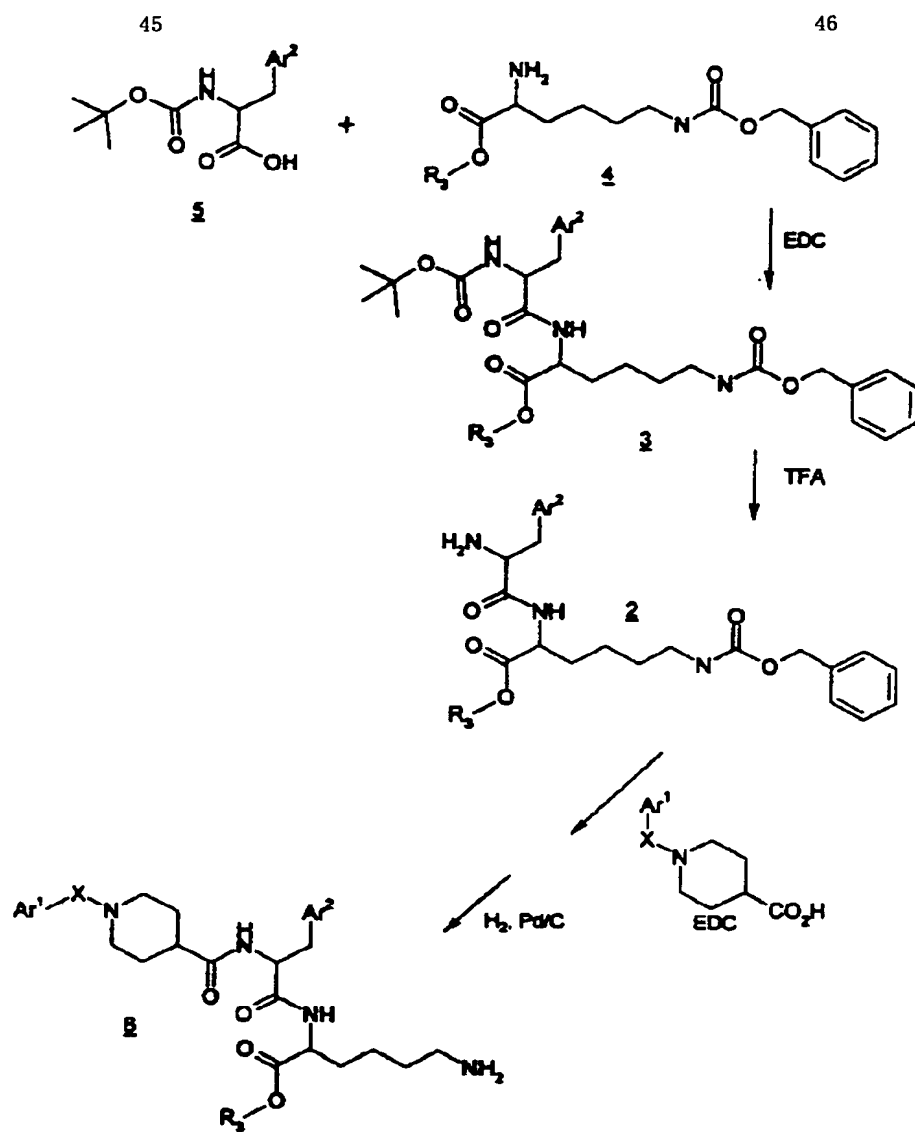
【0061】反応工程式1A

【化39】



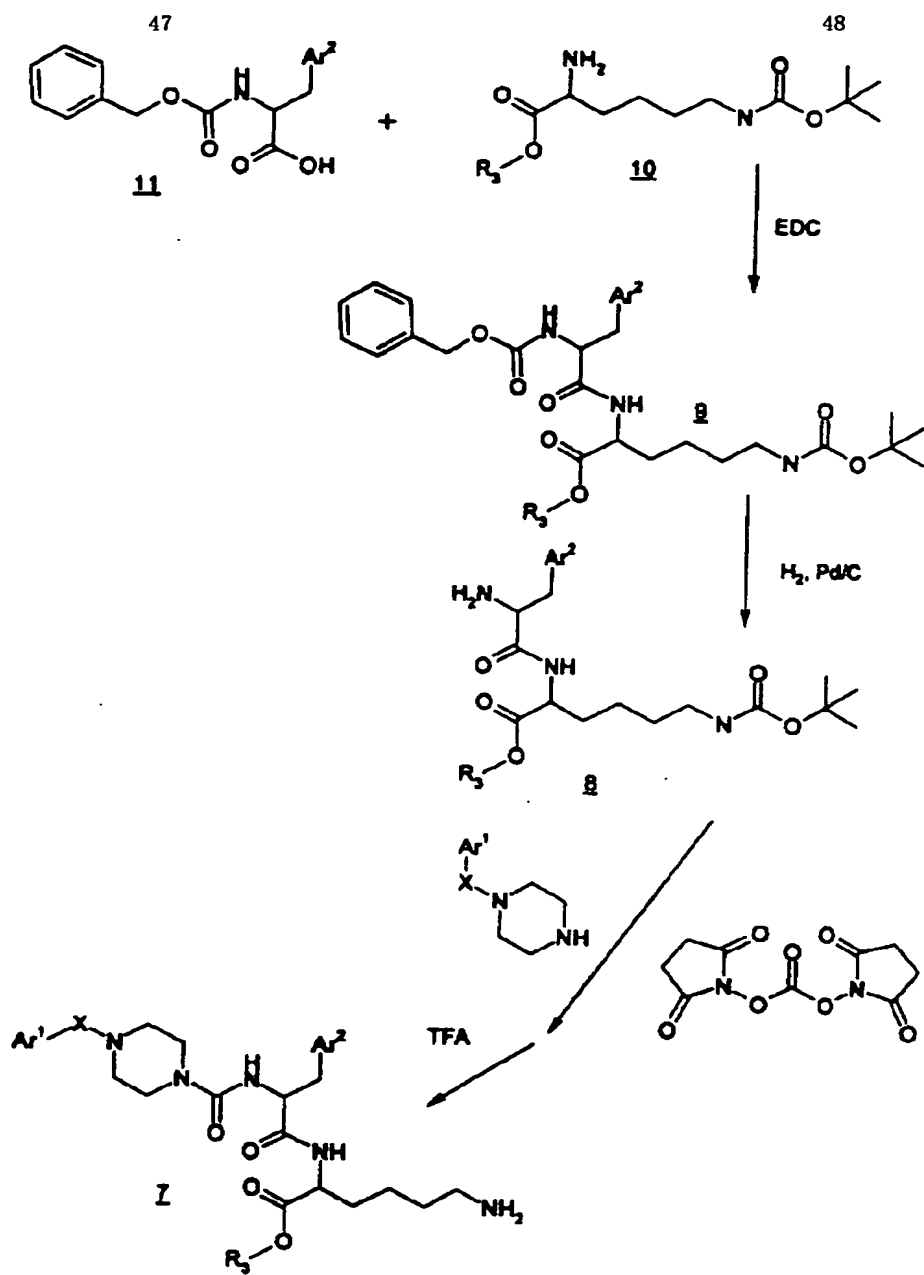
【0062】反応工程式1B

【化40】



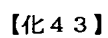
【0063】反応工程式2A

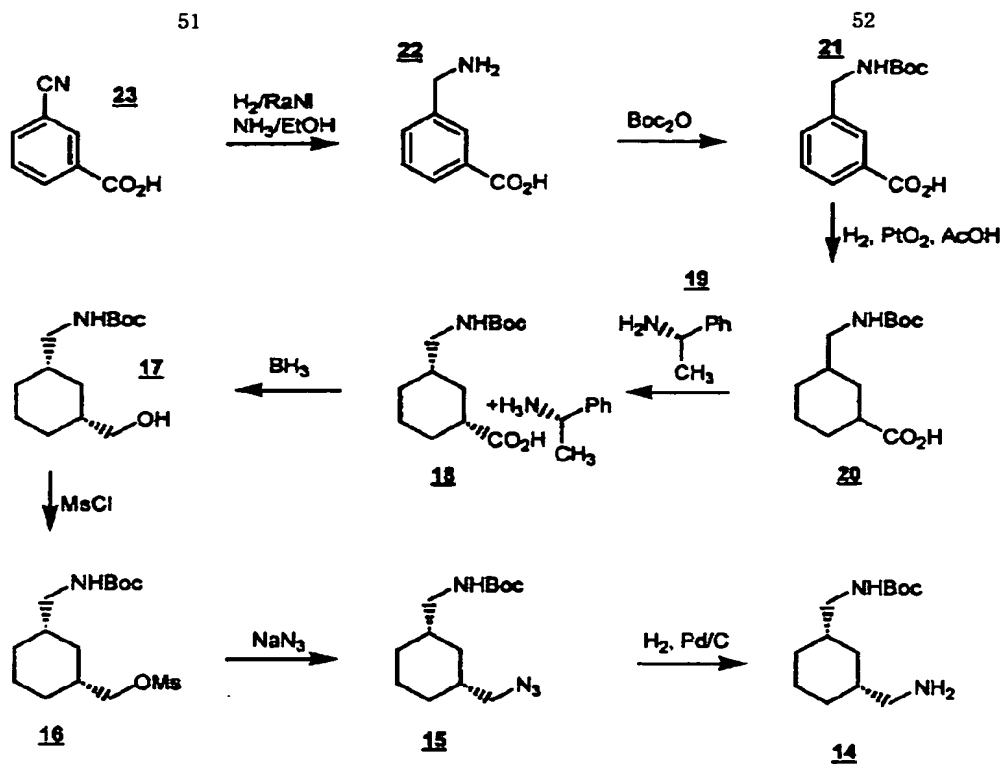
【化41】



【 0 0 6 4 】 反 応 工 程 式 2 B

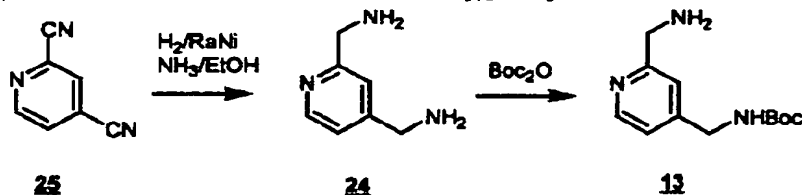
【 化 4 2 】





【0066】反応工程式3B

【化44】

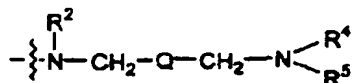


【0067】

【一般的反応条件】一般的に、本発明の化合物は、所定の反応性の基を適当に保護し、縮合の順序を制御する、一連の縮合反応により製造する。反応工程式1A対2A（ピペラジン）、及び1B対2B（ピペリジン）は、同じ生成物への代替経路を示している。これらの反応工程式において、5（BOC誘導体）及び11（CBZ誘導体）のような化合物は容易に製造されるか又は市販され入手可能である。多数のAr²基（基Z又は基Z'について定義した）を有する化合物の製造は、当業者に直ちに明白であろう。同様に、反応工程式1及び2においてピペラジン部分及びピペリジン部分を与える反応体は、それ自体が、本発明の実施において許容される基Ar¹又は基Xの全ての種類を用いて容易に製造される。代表的な反応順序の記載は実施例1～4で行う。

【0068】反応工程式3A及び3Bは、Wが式：

【化45】



で表される選択枝（a）である式（I）で表される一般

30 構造中の「W」基へのアプローチ、及びとりわけ、Qが、例えば、シクロヘキサン又はピリジンである成分Wの概略的な代表的合成を提供する。このように、反応工程式3A及び3Bは、その代表的なリシン部分が、例えば、シクロヘキサン基又はピリジン基を含む部分により置き換えた、化合物1、6、7及び12に類似の化合物、及び反応工程式1及び2の類似化合物の合成を可能にしている。多数の等価な反応工程式が、当業者には利用可能である。

40 【0069】反応工程式3Aを参照するに、式14で表される化合物は、適当な条件下に水素による還元によって式15で表される化合物から製造することができる。式15で表される化合物は、式16で表される化合物から、NaN₃を用いた化合物16のメシレートエステル（mesylate ester）を置換する反応を介して製造することができる。化合物16は、化合物17から、塩基性の条件下で、例えば、0℃でトリエチルアミン/ジクロロメタン中に、メシル（メタンスルホン）クロライドを用いて、良好な収率で、製造することができる。化合物17は、化合物18から、BH₃を用いたそのカルボキシル基における還元によって製造する

ことができる。反応工程式 3 (a) に示した立体特異性を有する化合物 18 は、ラセミ化合物 20 から、立体特異的な α -メチルベンジルアミンを用いたキラル分割とそれに続く選択的精製、例えば、結晶化によって製造する。化合物 20 は、対応する芳香族化合物 21 から、水素を用いた還元を、例えば、適当な条件下で行うことにより製造することができる。順に、化合物 21 は、対応する (保護されていない) 化合物 22 から、標準的な条件下で BOC 無水物を用いた反応により製造する。最後に、化合物 22 は、入手可能な出発材料 23 から、ラネーニッケル製剤上での水素を用いたシアノ基の還元によって製造することができる。反応工程式 3 (b) において、2つの工程で、最初に BOC 無水物を用いて式 24 で表される化合物から、式 14' で表される化合物を生成するために、入手可能な出発材料を利用する。化合物 24 は、式 25 で表される化合物から、再度、水素及び触媒としてラネーニッケルを用いて両方のシアノ基を還元することにより、生成する。

【0070】

【実施例】以下に記載の化合物は、本発明の代表的化合物である。

【実施例 1】《中間体の合成》

(CBZ-D-Trp-Lys (OtBu)-OtBu) 以下の合成工程は、タイプ 11 及び 10 で表される化合物の反応を言及している、中間体 9 を形成するための、反応工程式 2A においても明確である。「CBZ」とは、フェニルー (CH₂)-O-C(O)- で表されるカルボベンジルオキシ基を意味する。塩化メチレン 60 mL 中の CBZ-D-Trp-OH 406 mg (1.2 ミリモル)、Lys (BOC)-OtBu·HCl 302 mg (1.0 ミリモル)、ヒドロキシベンゾトリアゾール 202 mg (1.5 ミリモル)、及び 4-ジメチルアミノピリジン 366 mg (3 ミリモル) の溶液に、1, 3-ジメチルアミノプロピルー 3-エチルカルボジイミドヒドロクロライド (EDC) 448 mg (1.5 ミリモル) を添加した。3 時間の攪拌の後、この反応物にさらに塩化メチレン 100 mL を添加し、0.1 N 塩酸溶液 25 mL 部分で 4 回、50% 飽和炭酸水素ナトリウム溶液 25 mL で 2 回、飽和ブライン 50 mL で 1 回洗浄し、無水硫酸マグネシウム上で乾燥させ、ろ過し、そして減圧下に溶媒を除去して CBZ-D-Trp-Lys (BOC)-OtBu 590 mg (100%) を得た。

【0071】(D-Trp-Lys (CBZ)-OtBu) CBZ-D-Trp-Lys (OtBu)-OtBu 590 mg の溶液を、炭素触媒上 10% パラジウム 100 mg を用いてメタノール 50 mL 中に 50 PSI で 2.5 時間水素化した。次いで、触媒をろ別し、溶媒を蒸発させて D-Trp-Lys (BOC)-OtBu 466 mg (95%) を得た (反応工程式 2A、反応体 9

→8 を参照されたい)。

【0072】

【実施例 2】《6-アミノ-2-(3-(1H-インドール-3-イル)-2-{[4-(トルエン-4-スルホニル)-ピペラジン-1-カルボニル]-アミノ}-プロピオニルアミノ)-カプロン酸・tert-ブチルエステルの合成》

(a) BOC-D-Trp-Lys (CBZ)-OtBu

10 塩化メチレン 450 mL 中の BOC-D-Trp 1.52 g (5 ミリモル)、Lys (Z)-OtBu·HCl (1.89 g : 5 ミリモル)、ヒドロキシベンゾトリアゾール 1.01 g (7.5 ミリモル)、及び 4-ジメチルアミノピリジン 1.83 g (15 ミリモル) の溶液に、1, 3-ジメチルアミノプロピルー 3-エチルカルボジイミドヒドロクロライド 2.22 g (11.6 ミリモル) を添加した。15 時間の攪拌の後、この反応物にさらに塩化メチレン 300 mL を添加し、50% 飽和クエン酸水溶液 100 mL 部分で 4 回、50% 飽和炭酸水素ナトリウム溶液 100 mL で 1 回、飽和ブライン (NaCl) 100 mL で 1 回洗浄し、無水硫酸マグネシウム上で乾燥させ、ろ過し、そして減圧下に溶媒を除去して BOC-D-Trp-Lys (CBZ)-OtBu 2.95 g (94%) を得た (反応工程式 1A、反応体 5 及び 4 → 反応体 3 の反応を参照されたい)。

【0073】(b) D-Trp-Lys (CBZ)-OtBu

塩化メチレン 200 mL 中の BOC-D-Trp-Lys (CBZ)-OtBu 2.95 g (4.7 ミリモル) の溶液に、トリフルオロ酢酸 10 mL を添加した。この反応物 (反応工程式 1A、3 → 2 の反応を参照されたい) を 2 時間攪拌し、溶媒を 35℃ 以下の温度で減圧下に迅速に除去した。この油状物を塩化メチレン 300 mL と 50% 飽和炭酸水素ナトリウム水溶液 100 mL との間で分配した。この層を分離し、その有機層を飽和ブライン 100 mL で洗浄し、無水硫酸マグネシウム上で乾燥させ、ろ過し、そして減圧下に溶媒を除去して、D-Trp-Lys (CBZ)-OtBu 2.50 g (100%) を得た。

40 (c) 6-ベンジルオキシカルボニルアミノ-2-(3-(1H-インドール-3-イル)-2-{[4-(トルエン-4-スルホニル)-ピペラジン-1-カルボニル]-アミノ}-プロピオニルアミノ)-カプロン酸・tert-ブチルエステル

無水塩化メチレン 40 mL 及び無水テトラヒドロフラン 80 mL 中の D-Trp-Lys (CBZ)-OtBu 523 mg (1.00 ミリモル) 及びジイソプロピルエチルアミン 129 mg (1.00 ミリモル) の溶液に、ジスクシミジルカーボネート 256 mg (1.0 ミリモル) を添加した。2 時間の攪拌後、出発材料を TLC

(9 : 1 : 0. 2 のクロロホルム : メタノール : トリエチルアミン) によって除去し、無水塩化メチレン 5 mL 中のトシルピペラジン 264 mg (1. 10 ミリモル) を添加した。この反応物を 15 時間攪拌し、次いで塩化メチレン 300 mL を添加し、50% 飽和クエン酸水溶液 50 mL 部分で 3 回、飽和ブライン 100 mL で 1 回洗浄し、無水硫酸マグネシウム上で乾燥し、ろ過し、そして減圧下に溶媒を除去して粗製生成物 858 mg を得た。これを、溶離剤として 2 : 1 の酢酸エチル : ヘキサンを用いたフラッシュクロマトグラフィで処理して、純粋な中間体生成物である、6-ベンジルオキシカルボニルアミノ-2- (3- (1H-インドール-3-イル) -2- { [4- (トルエン-4-スルホニル) -ピペラジン-1-カルボニル] -アミノ} -プロピオニルアミノ) -カプロン酸・tert-ブチルエステル 550 mg (70%) を得た (反応工程式 1 A、試薬 2 の反応を参照されたい)。

【0074】 (d) 最終生成物

前記からの生成物 1. 100 g の溶液を、炭素上 10% パラジウム触媒 110 mg を用いてメタノール 60 mL 中で 50 PSI で水素化した。2 時間後、TLC (9 : 1 のクロロホルム : メタノール) によれば反応が完結していなかったもので、もう一度触媒 110 mg 及びメタノール 10 mL を混合物に充填し、さらに 2 時間水素化を継続し、この時点で反応が完結した。触媒をろ別し、0. 1 N 塩酸水溶液 20 mL までを添加して pH を 2. 0 にした。次いで、この溶液を凍結乾燥して、6-アミノ-2- (3- (1H-インドール-3-イル) -2- { [4- (トルエン-4-スルホニル) -ピペラジン-1-カルボニル] -アミノ} -プロピオニルアミノ) -カプロン酸・tert-ブチルエステル 500 mg (52%) を得た (反応工程式 1 A、生成物 1 の形成を参照されたい)。

¹H NMR (CD₃OD) : δ 4. 50 (1H, t, J = 7 Hz), 4. 21 (1H, m), 2. 49 (3H, s), 1. 44 (9H, m)。MS : M+1 = 655。他の置換されたピペラジンを、この順序の第三の工程において用いて追加の生成物を得ることができた。

【0075】

【実施例 3】《6-アミノ-2- {2- [(1-ベンゼンスルホニル-ピペラジン-1-カルボニル) -アミノ] -3- (1H-インドール-3-イル) -プロピオニルアミノ} -カプロン酸・tert-ブチルエステル》塩化メチレン 40 mL 中の D-Trp-Lys (CBZ)-OtBu 80. 0 mg (0. 164 ミリモル)、ヒドロキシベンゾトリアゾール 33. 2 mg (0. 246 ミリモル) 及び 4-ジメチルアミノピリジン 60. 0 mg (0. 492 ミリモル) の溶液をそれぞれ 10 mL の 4 つの部分に分けた。一つの 10 mL 部分に、ベンゼンスルホニルイソヘキサヒドロニコチン酸 1

6. 5 mg (0. 0615 ミリモル) 及び 1, 3-ジメチルアミノプロピル-3-エチルカルボジイミドヒドロクロライド 18. 0 mg (0. 0615 ミリモル) を添加した。2 時間攪拌した後、さらに塩化メチレン 15 mL を反応物に添加し、半飽和クエン酸溶液 10 mL 部分で 4 回、50% 飽和炭酸水素ナトリウム溶液 10 mL で 2 回、飽和ブライン 10 mL で 1 回洗浄し、無水硫酸マグネシウム上で乾燥させ、ろ過し、そして減圧下に溶媒を除去した。次いで、この残さを塩化メチレン 5 mL 中に溶解し、トリフルオロ酢酸 250 μl を攪拌しながら添加した。この反応を TLC (9 : 1 のクロロホルム : メタノール) によって厳密に追跡した。2 時間後、反応が完結したと判断し、溶媒を減圧下に迅速に除去した。この残さをジエチルエーテルでトリチュレート処理し、乾燥して、純粋な 6-アミノ-2- {2- [(1-ベンゼンスルホニル-ピペラジン-1-カルボニル) -アミノ] -3- (1H-インドール-3-イル) -プロピオニルアミノ} -カプロン酸・tert-ブチルエステルのトリフルオロ酢酸塩 32 mg (100%) を得た。

¹H NMR (CD₃OD) : δ 4. 68 (1H, m), 4. 22 (1H, m), 1. 45 (9H, m)。MS : M+1 = 640。

【0076】

【実施例 4】《6-アミノ-2- {2- [(4-ベンゼンスルホニル-ピペラジン-1-カルボニル) -アミノ] -3- (1H-インドール-3-イル) -プロピオニルアミノ} -カプロン酸・tert-ブチルエステル》塩化メチレン 4 mL 及びテトラヒドロフラン 4 mL 中の D-Trp-Lys (CBZ)-OtBu 40. 0 mg (0. 082 ミリモル)、N, N-ジイソプロピルエチルアミン 15. 8 mg (0. 123 ミリモル) 及び N, N-ジスクシミジルカーボネート 21. 0 mg (0. 082 ミリモル) の溶液を室温で 15 時間攪拌した。この溶液をそれぞれ 2. 0 mL の 4 つの部分に等しく分けた。その一つの 2. 0 mL 部分に、テトラヒドロフラン 1. 0 mL 中のベンゼンスルホニルピペラジン

4. 6 mg (0. 0205 ミリモル) を添加した。24 時間の攪拌後、さらに塩化メチレン 10 mL を反応物に添加し、0. 1 N 塩酸溶液 5 mL 部分で 2 回、飽和ブライン 5 mL で 1 回洗浄し、無水硫酸マグネシウム上で乾燥させ、ろ過し、そして減圧下に溶媒を除去した。次いで、この残さを塩化メチレン 2 mL 中に溶解し、トリフルオロ酢酸 100 μl を攪拌しながら添加した。この反応を TLC (9 : 1 のクロロホルム : メタノール) によって厳密に追跡した。0. 5 時間後、反応が完結したと判断し、溶媒を減圧下に迅速に除去した。この残さをジエチルエーテルでトリチュレート処理し、乾燥して、純粋な 6-アミノ-2- {2- [(4-ベンゼンスルホニル-ピペラジン-1-カルボニル) -アミノ] -3- (1H-インドール-3-イル) -プロピオニルアミ

ノ}-カブロン酸・tert-ブチルエステルのトリフルオロ酢酸塩 11mg (71%) を得た。

¹H NMR (CD₃OD) : δ 4.50 (1H, t, J = 7 Hz)、4.21 (1H, m)、1.44 (9H, m)。MS : M+1 = 641。

【0077】

【実施例5】《6-アミノ-2-[2-[(4-ベンゾイル-ピペリジン-1-カルボニル)-アミノ]-3-(1H-インドール-3-イル)プロピオニルアミノ]-ヘキサン酸・tert-ブチルエステル》

¹H NMR (CD₃OD) : δ 4.62 (1H, t, J = 8 Hz)、4.25 (1H, m)、2.83 (2H, t, J = 7 Hz)、1.48 (9H, m)。MS : M+1 = 605。

【実施例6】《6-アミノ-2-(3-(1H-インドール-3-イル)-2-{[4-(4-メチル-ベンゾイル)-ピペリジン-1-カルボニル]-アミノ}-プロピオニルアミノ)-ヘキサン酸・tert-ブチルエステル》

¹H NMR (CD₃OD) : δ 4.62 (1H, t, J = 7 Hz)、4.25 (1H, m)、2.83 (2H, t, J = 7 Hz)、2.42 (3H, s)、1.48 (9H, m)。MS : M+1 = 619。

【0078】

【生物学的アッセイ】種々のタイプのソマトスタチンアゴニストが当業者に周知であり、生理学的環境に応じてアゴニスト、アンタゴニスト、又はそのいずれかとして作用する本発明の化合物の能力は、当業者に公知のアッセイ及び/又は下記のアッセイから予想することができる。例えば、サイクリックAMPの測定、成長ホルモンの放出、微小体物理学的測定法 (microphysiology) での応答、細胞増殖又はタンパク質キナーゼ活性は、培養された下垂体細胞、細胞系又はソマトスタチンレセプターを発現する神経芽腫細胞のような他の細胞、及びトランスフェクトされた酵母細胞を含む組換えソマトスタチンレセプターでトランスフェクトされた細胞において測定することができる [Y. C. Patelら, Biochemical & Biophysical Research Communications, 198 (2), 605~612頁, 1994年; M. G. Cattaneoら, FEBS Letters, 397 (2~3), 164~168頁, 1996年; J. A. Koenigら, British Journal of Pharmacology, 120 (1), 45~51頁, 1997年; D. Djordjijevicら, Endocrinology, 139 (5), 2272~2277頁, 1998年; W. R. Baumbachら, Molecular Pharmacology, 54 (5), 864~73頁, 1998年]。

【0079】一般に、ソマトスタチン又はそのアゴニストは阻害活性を示すので、刺激剤を最初に用いて [例えば、サイクリックAMPに対してホルスコリン (forskolin)] ソマトスタチンの阻害効果を観察する。アンタゴニストは、ソマトスタチンの阻害作用を反対方向に変える。式 (I) で表される化合物、及びその薬剤学的に許容することができる塩、その溶媒化物又は水化物 (本明細書中で以下、本発明の化合物という) のソマトスタチンアンタゴニストとしての作用する能力、及びその結果として病気の状態の治療におけるそれらの有効性を示す能力を、以下のアッセイにより示す。

【0080】

【実施例7】《ウシ ("b") sst2 結合アッセイ》
本例は、ウシの sst2 レセプターにおける薬剤学的に有用なソマトスタチンアゴニスト及びアンタゴニストの結合アッセイを説明するものである。以下の詳細なプロトコルを参照するに、ニューロ (Neuro) 2A細胞の培養方法及び競合的結合能 (IC₅₀) の測定方法は、以下の変更を伴うが、J. A. Koenigら, "Somatostatin receptors in Neuro2A neuroblastoma cells: operational characteristics" British Journal of Pharmacology, 120, 45~51頁, 1997年に記載の方法に類似していた。

【0081】結合アッセイは、サイトメガロウイルスプロモーターの下流に位置した、ウシ sst2 レセプターをコードするインサートを含有するプラスミド (PCI-bsst2) でニューロ (Neuro) 2A細胞を一過的にトランスフェクトしてから72時間後に実施した。トランスフェクションの工程において 6.5 x 10⁶ 個のニューロ2A細胞を、各組織培養フラスコ (表面積 162 cm²) に対し 35 mL の培地に添加した。翌日、製造業者の指示に従って、フュージン (Fugene) 6 [ベーリンガー・マンハイム (Boehringer Mannheim)、1814 443] を用いてトランスフェクションを行った。フュージン 6 (30 μl/フラスコ) を 8 μg の PCI-bsst2 プラスミドで平衡化し、ウシ胎児血清の不在下にニューロ2A細胞に添加した。3時間後、新鮮な血清含有培地を添加した。アッセイバッファは、50 mM の HEPES、5 mM の MgCl₂、1 mg/mL のウシ血清アルブミン (BSA)、0.02 mg/mL のバシトラシン、及び各 10 μM のアプロチニン、ロイペプチン (leupeptin) 及び AEBSF を含むように変更した。トランスフェクトされたニューロ2A細胞は、トリプシン/EDTA の不在下に、氷冷アッセイバッファ (5.5 mL/フラスコ) 中で解離させ、細胞を 55 mL のウィートン・ダウンス・ホモジナイザー (Wheaton Dounce homogenizer) (1

5〜20ストローク)でホモジナイズ処理した。膜調製物は−70℃でアリコート中に保存した。競合的結合アッセイ及び遊離の放射能からの結合物の分離は、ポリエチレンイミン含浸ミリポア (Millipore) 96 ウェル (Well) GF/C フィルタープレート (Filter plates)、(MAFC NOB10) 中で行った。約20%の [125 I]−ソマトスタチン14 トレーサー [アマーシャム (Amersham)、IM 161] が結合した膜の量を用い、全てのウェルに15,000 cpm/ウェル (約15 nCi/ウェル) で 10 添加した。ソマトスタチンは、各実験で、陽性の対照として、0.0042〜1.667 nMまでの7段階の濃度で含め、試験化合物は33 nM〜13.33 μ Mまでの7段階の濃度で含めた。反応容量は300 μ lであり、インキュベーションは37℃で1時間実施した。非特異的結合は、0.83 μ Mのソマトスタチン14を用いて定義した。インキュベーションは、ガラスフィルタープレートボトムを介した減圧ろ過、それに続くBSAを引いたアッセイバッファ及びプロテアーゼ阻害剤による250 μ lの洗浄によって終了させた。次いで、プレートボトムをシールし、シンチレーション液体を添加し [ワラック・スーパーミックス (Wallac Supermix)、250 μ l/ウェル]、放射能を96ウェル・マイクロタイター・リキッド・シンチレーション・カウンターによって測定した。よって、好ましいプロトコルの詳細な記載は以下の通りである。

【0082】《緩衝液及び浴液》

洗浄緩衝液 (1リットル当たり) :

50 mM-HEPES, 1 Mストック50 mL (Gibco BRL #15630-080)

5 mM-MgCl₂, 0.476 g (Sigma M-8266)

[HCl又はKOHによってpHを7.4にする]

[ddH₂Oで1リットルにする]

0.2%ポリエチレンイミンろ紙予備湿潤溶液 (1リットル当たり) :

4 g ポリエチレンイミン50%水溶液 (P-3143 Sigma)

[ddH₂Oで1リットルにする]

結合緩衝液 (1リットル当たり) :

50 mM-HEPES, 1 Mストック50 mL (Gibco BRL #15630-080)

5 mM-MgCl₂, 0.476 g (Sigma M-8266)

[HCl又はKOHによってpHを7.4にする]

ウシ血清アルブミン1 g (A-7888 Sigma)

バシトラシン20 mg (B-0125 Sigma)

10 μ M アプロチニン (A-4529 Sigma)

10 μ M ロイペプチン (L-8511 Sigma)

10 μ M AEBSF (Sigma A-8456) 50

[ddH₂Oで1リットルにする]

培養基 (500 mL当たり) :

DMEM (10%ウシ胎児血清とペニシリン/ストレプトマイシンとを懸濁)

(500 mL容器中に、FBS 55 mL及びペニシリン/ストレプトマイシン5.5 mLをピペットで入れる)

【0083】《材料リスト》

1. MgCl₂ (Sigma M-8266)

2. 1M-HEPES (Gibco BRL cat # 15630-080)

3. バシトラシン (B-0125 Sigma)

4. アプロチニン (A-4529 Sigma)

5. ロイペプチン (L-8511 Sigma)

6. ウシ血清アルブミン (Sigma cat # A-7888)

7. ダルベッコPBS (Gibco BRL cat # 14040-141)

8. 細胞分離緩衝液 (Gibco BRL cat # 13150-016)

9. 50%ポリエチレンイミン (Sigma P-3143)

10. Neuro2A (ATCC, Manassas, VA, CCL #131) マウス神経芽細胞腫細胞系

11. トランジェントトランスフェクション用CMV-bssst2プラスミド [血清 ("b") sst2コード領域を担持している]

12. Eugene6トランスフェクション試薬 (Boehringer Mannheim cat # 1814443)

13. タイタープレート振動器 (Lab Line Instruments Inc.)

14. Milliporeガラス繊維フィルタータイプC96ウェルプレート (MAFC NOB10)

15. Millipore真空プレート装置

16. Matrixポリプロピレン1 mL 96ウェルブロック (8100-96)

17. 卓上遠心分離機w 50 mLチューブホルダー

18. 氷

19. 50 mL滅菌コニカルチューブ

20. Wallac放射性ベータプレート&ルミノメーターカウンター (Jet 1450 microbeta)

21. Wallacシンチレーション流体-オプティフェーズ (optiphase) 'Supermix' (1200-439)

22. Milliporeプレートシーラー (MATA 09600)

23. 162 cm² ベント式組織培養プレート (Coastar #3151)

24. Amersham 125I SRIF-14

(Try-11) (Amersham #IM161)
 25. DMEM (Gibco BRL #11965-092)
 26. FBS Gemini Bio-products (Cat#100-107, lot#A1801N)
 27. ペニシリン-ストレプトマイシン (Gibco BRL cat#15140-122)
 28. "Cold" SRIF-14 (Sigma S-1763)
 29. AEBSF (Sigma A-8456)
 30. ジメチルスルホキシド A. C. S. グレード (JT Baker cat#9224-01)

【0084】《bssst2をコードするDNAを用いるプラスミドの調製》

(1) PCI-bssst2プラスミドを担持している細胞の単独コロニーを、LB/amp媒質300mLに接種する。まる24時間放置して細胞を成長させ、続いて遠心分離によって細胞をペレットにした。Qiagenプラスミド精製プロトコル (Mega プロトコル) を使用する。プロトコルの最後に、70%エタノールで更に2回洗浄して、清浄なDNAを保証する。次に、そのDNA生成物を放置して風乾し、続いて分子生物学グレード10mMトリス-HCl (pH=7.4) 1mL中に再懸濁する。分光光度計を用いてDNA濃度を定量する。収率が変化するであろうが、PCI-bssst2プラスミドの濃度は、約1μg/μLでなければならない。約0.3μg/μLよりも低い濃度だと、続く、トランスフェクションプロトコルに干渉することがあり、その場合には、プラスミドを濃縮することが要求されるかもしれない。

【0085】《Neuro2A細胞の調製及びbssst2プラスミドのトランスフェクション》

(1) 162cm²ベント式組織フラスコ中で、DMEM (Gibco BRL #11965-092)、10%FBS、及び100単位ペニシリンGナトリウム、100μg/mLストレプトマイシン硫酸 [ペニシリン/ストレプトマイシン (Gibco-BRL #15140-122) =培養緩衝液550mL当たり5.5mL] (5%CO₂, 37℃) 中で、集密的になるまで生長させる。

(2) 細胞を、37℃のダルベッコPBS (13mL) で1回洗浄する。

(3) 分離緩衝液3mL (Gibco BRL cat#13150-016) を加えることによって細胞を収集し、そして5%CO₂下、37℃ (トリプシンを使用しない) で、5分間インキュベートする。フラスコの側面を叩いてフラスコから細胞を分離させ、培養基10mLを加え、そして滅菌した50mLポリプロピレンコンカルチューブ中にピペットで入れる。

(4) 室温で5分間遠心分離 (1000rpm) して、

ペレット状細胞を得る。

(5) 媒質を除去し、そして細胞を培養基中に再び懸濁する。滴定して、単独細胞分離物に細胞を分離する。新たな162cm²ベント式組織フラスコ中に播種する

[分割 (splitting) = 1:5 (162cm² フラスコ1個当たり細胞約6.5×10⁶個)]。

(6) 162cm²ベント式組織フラスコ1個につき培養基35mLを加える。

(7) 細胞がくっついた状態で放置し、そして5%CO₂下、37℃で、一晚 (16~18時間) 生長させる。細胞は、トランスフェクションにそのまま用いることができる (約50%集密)。

【0086】(8) 162cm²フラスコ1個について、DMEM (FBSなし), penn/Strep470μLを、15mL滅菌ポリプロピレンコンカルチューブ中にピペットを用いて入れる。Fugene6トランスフェクション試薬 (Boehringer Mannheim cat#1814443) 30μLを、前記媒質に直接加え、そして放置して5分間釣り合わせる (媒質に直接加えるとは、チューブの内側面にピペットで入れないことである)。別の15mLコンカル滅菌チューブの底に、PCI-bssst2プラスミド8μLを加えた (これは、20μLを超えてはならない)。DMEM/Fugene混合物500μLの全てを、DNA上に直接ピペットで加え、そして室温で15分間釣り合わせた。前記試薬はDNAプラスミド分子を担持するリポソームを形成するであろう。約50%集密のNeuro2A細胞を含む各162cm²ベント式組織フラスコの媒質に、混合物全体を直接加え、そして5%CO₂

下、37℃で3時間インキュベートする (この段階で、前記媒質中のFBSは、トランスフェクションを妨害することがないであろう)。媒質を除去し、そして細胞に新鮮な培養基35mLを加える。

(9) トランスフェクションから72時間後に、前記工程 (2) ~ (4) に記載のとおり細胞を収集する。細胞から媒質を除去し、そして-80℃の冷凍機中に置くことによって、前記ポリプロピレンコンカルチューブ中で細胞を冷凍する。膜の大きなパッチを製造するのに十分な細胞 (約80フラスコ) を集める。

【0087】《bssst2レセプターを発現するNeuro2A細胞の細胞膜の調製》bssst2トランスフェクトNeuro2A細胞のフラスコ1個につき、氷冷した結合緩衝液 (調合法については、前記を参照された) 5.5mLを加えることによって、トランスフェクト細胞を再び懸濁する。細胞を撹拌させて、単独細胞懸濁液を生成する。55mL-Wheaton Dounce細胞組織ホモジェナイザーを用いて、全細胞をホモジェナイズ (15~20ストローク) し、そして組み合わせで大きなパッチ中に入れる。3mLアリコート (96ウェルプレートに十分) で、そして-70℃で冷凍し

て保存する。各ウェルに加える膜の正確な量を決定するために、膜の滴定を実施する必要がある。

【0088】《 ^{125}I 》ソマトスタチン (SRIF) の調製》Amer sham ^{125}I -SRIF (#IM161) を、50 μCi 瓶中に提供する。各 50 μCi 瓶を 10 mL 結合緩衝液中に希釈し、そして 330 μL アリコートで、20℃で貯蔵する。アッセイの直前に、結合緩衝液で各アリコートを 11 mL に希釈する。これは、96 ウェルプレートに十分である。

【0089】《Millipore 96 ウェル GF/C フィルタープレート調製》0.20% ポリエチレンイミン/ H_2O 溶液 100 μL を、96 ウェルプレートの各ウェルにピペットで入れ、そして少なくとも 2 時間インキュベートする。次に、真空ろ過によって液体を除去し、そしてそのプレートを一晚乾燥させる。乾燥したプレートを、箱の中で、室温で期限を決めずに貯蔵した。

【0090】《Neuro 2A/bSST₂ 膜の膜滴定》可能な限り膜のバッチを通常化するために、膜の滴定を実施する。新鮮な希釈 SRIF-14 (125-1) 約 15000 CPM を、全てのウェル中にピペットで入れる。膜を種々体積 (10, 20, 40, 及び 80 μL) で、ウェル (3 カ所ずつ) に加えた。前記体積の

膜、及び 1 μM の冷却 SRIF-14 を、ウェル (3 カ所ずつ) に加えて、非特異的結合を確認する。更に、各容量の膜を、冷却 SRIF-14 (0.03 nM~5 nM) で滴定して、冷却 SRIF-14 に対する IC50 を得る。50 μL = 6500~7000 CPM なので、特異的結合が約 6500~7000 CPM となり、そして冷却 SRIF に対する IC50 値が 60 pM~500 pM となる体積となるように、結合緩衝液で希釈し、適当にアリコート化 (96 ウェルプレート 1 個につきチューブ 1 本) し、そして -70℃ で冷凍する。

【0091】《試験化合物及びソマトスタチン-14 の調製》非放射性ソマトスタチン-14 (14 アミノ酸残基形態である) を、Sigma 社から購入する (Sigma #S-1763)。親液化した SRIF-14 (1 mg) を DMSO (500 μL) 中に再懸濁し、次に、結合緩衝液で 122 mL に希釈して、濃度が 5 μM の冷却 SRIF-14 を得る。1 mL のアリコートを -20℃ で冷凍保存する。実験の日に、そのアリコートを解凍し、そして結合緩衝液で連続希釈して、以下の表 1 に記載の濃度にする。

【0092】

【表 1】

onc #	濃度 (nM)	希釈内容 (SRIF-14)			
		目標濃度 (nM)	希釈率	溶液の体積 (μL)	干渉液の体積 (μL)
	5000	20	250	5	1245
	20	10	2	500	500
	10	5	2	100	100
	5	2.5	2	100	100
	2.5	1.25	2	100	100
	1.25	0.625	2	100	100
	0.625	0.125	5	50	200
	0.125	0.025	5	50	200

【0093】後出のとおり、3 回ずつ種々ウェルに加えるのに、10 nM、5 nM、2.5 nM、1.25 nM、0.625 nM、0.125 nM、及び 0.025 nM を用いる。種々化合物を 100% DMSO 中に再懸

濁して、濃度を 5 mM とする。次に、それらを、以下の表 2 に記載のとおり、結合緩衝液で希釈する。

【0094】

【表 2】

65

66

o n c #	希釈内容 (化合物に対する)				
	濃度 (μM)	目標濃度 (μM)	希釈率	s t 溶液の体積 (μL)	干渉液の体積 (μL)
	5000	80	62.5	20.35	1251.525
	80	40	2	100	100
	40	20	2	100	100
	20	10	2	100	100
	10	5	2	100	100
	5	1	5	50	200
	1	0.2	5	50	200

【0095】後出のとおり、3回ずつ種々ウェルに加えるのに、80 μM、40 μM、20 μM、10 μM、5 μM、及び0.2 μMを用いる。

【0096】《96ウェルbSST₂膜結合アッセイ》
96ウェルブロックの各ウェル中に、結合緩衝液100

μLをピペットで入れる。次に、化合物ストック50 μLを適当なウェルに3回ずつ入れる。以下の表3に記載の構成で、全ての化合物を3回ずつ試験した。

【0097】

【表3】

	化合物1	化合物2	化合物3	化合物4
A	1, 2, 3	4, 5, 6	7, 8, 9	10, 11, 12
B	1, 2, 3	4, 5, 6	7, 8, 9	10, 11, 12
C	1, 2, 3	4, 5, 6	7, 8, 9	10, 11, 12
D	1, 2, 3	4, 5, 6	7, 8, 9	10, 11, 12
E	1, 2, 3	4, 5, 6	7, 8, 9	10, 11, 12
F	1, 2, 3	4, 5, 6	7, 8, 9	10, 11, 12
G	1, 2, 3	4, 5, 6	7, 8, 9	10, 11, 12

【0098】プレート2は、化合物5、6、7、及び8などを有することになろう。冷却ソマトスタチンは、プレート1上で化合物1として滴定を実施し、そして冷却SRIF-14の濃度は、以下のとおりである：

A 1, 2, 3=1.667 nM (最終濃度；添加濃度は10 nM)

B 1, 2, 3=0.833 nM

C 1, 2, 3=0.416 nM

D 1, 2, 3=0.208 nM

E 1, 2, 3=0.104 nM

F 1, 2, 3=0.0208 nM

G 1, 2, 3=0.0042 nM

【0099】全ての別の化合物は、以下の化合物濃度で試験する：

A n, n, n=13, 333 nM (最終濃度；添加濃度は80 nM・・・)

B n, n, n=6, 666 nM

C n, n, n=3, 333 nM

D n, n, n=1, 666 nM

E n, n, n=833.3 nM

F n, n, n=166.6 nM

G n, n, n=33 nM

【0100】対照を、各プレートの「H」列上に、4つずつ設定する。H1、2、3、4は、常に、ウェルに入れられるCPMの合計を提供する。H5、6、7、8は、結合している膜の合計 (冷却SRIF-14なし) を提供する。H9、10、11、12は、非特異的結合

(各ウェルに、5 μM冷却SRIF 50 μLを添加) を提供する。全てのプレートにおいて、以下のbSST₂膜溶液50 μLを、H1、2、3、4を除く各ウェルに加える。全てのプレートにおいて、放射能標識¹²⁵Iソマトスタチン追跡剤溶液100 μLを、H1、2、3、4を除く各ウェルに加える。

30 【0101】次に、96ウェルブロックを、プレート封止テープで封止し、攪拌させ、そして37℃のインキュベーター中のタイタープレート振動器 (Lab Line Instruments Inc.) (セッティング3) 上に置く。1時間放置して、結合反応を進行させる。次に、そのプレートを前記振動器から取り外し、攪拌させ、そしてプレート封止テープを取り除く (そして、¹²⁵I廃液中に置く)。次に、前記96ウェルブロック中の各ウェルから体積250 μLを、前記96ウェルフィルタープレート上の相補的なウェルに移す。いずれのプレートも、試験される化合物の番号が識別できるように、適当に標識する。次に、Millipore真空装置を用いて、前記フィルタープレートを底から吸引して、前記ろ紙を通して全ての液体を流す。次に、洗浄緩衝液50 μLを各ウェルに加え、そしてそしてそのプレートに真空を適用して、真空ろ過によって各ウェルを完全に空にする。次に、前記プレートの底をナプキンで拭って、全ての残りの液体を除去する。放射能標識SRIF-14 (100 μL) を、ウェル (すなわち、全てのプレート上のH1、2、3、4) (これらが、合計CPMウェルである) 中にピペットで入れる。これらと同

じウエルに、Wallac 'Supermix' シンチレーション流体 200 μ L を加える。全ての別のウエルに、Wallac 'Supermix' シンチレーション流体 250 μ L を加える。プレートの底及び上部の両方をプレート封止テープで封止し、そして Wallac カセット (1450-105) 中に置く。Wallac プログラム (SST₂ フィルターメート) を用いて各プレートを読む。未加工の CPM を評価用 Datafast プログラム中にダウンロードし、各化合物濃度に対して結合%を計算し、こうして各化合物に対する適当な IC50 値を得る。結合% = [CPM - CPM (非特異的結合)] / 膜結合 CPM の合計 \times 100 次に、各化合物及びその IC50 値を、SAR 分析用データベースに報告する。

【0102】

【実施例 8】《ソマトスタチンレセプターアンタゴニストに対するラット下垂体アッセイ》このアッセイは、ソマトスタチンレセプターにおいて直接的に相互作用するソマトスタチンのアゴニストの活性を定量することを意図する。前記アッセイは、ソマトスタチンの阻害効果を変化させることによって成長ホルモンの分泌を増加させる薬剤の発見を促進する。前記のように、ソマトスタチン (SRIF と略称する) は、アデニルシクラーゼに消極的に結合する親和性の高い膜結合 (及び G-タンパク質) レセプターに結合することによって下垂体前葉中の GH 分泌を阻害し、それによって、例えば細胞質流体からの GH の分泌/放出を促進するであろうということ以外は、細胞内の cAMP レベルを減少させる。バソアクティブインテスティナルペプチド (VIP) は、いくつかの内性ペプチドの 1 種であり、G-タンパク質依存信号伝達経路に連結する親和性の高い膜結合レセプターに結合することによって GH 分泌を刺激する。VIP は、アデニル酸シクラーゼを活性化させ、そして細胞内 cAMP レベルの増加をもたらす。これらのペプチドは、生理学的条件下における GH 分泌の整合的調節に関係することがあり、そして cAMP を通じて媒介されることもある。前記スクリーンにおいて使用する細胞系は、通常の下垂体細胞に考えられるように、VIP 及び SRIF、並びに多くの別の調節ホルモンに応じて GH を合成及び分泌する、下垂体クローン細胞である。前記スクリーンは、VIP によって生じる細胞内 cAMP レベルの上昇を SRIF が阻害することを逆転させる試験薬剤の能力を定量することを意図する。この手順では、最小のサンプルサイズが約 1 mg であることに注意されたい。

【0103】具体的には、下垂体細胞系 GH₄C₁ の内容物であるサイクリック AMP (cAMP) を用いて、ソマトスタチンアゴニストを、アンタゴニストと区別した。この方法は、L. J. Dorflinger ら ("Somatostatin inhibits vasoactive intestinal peptide-stimulated cyclic adenosine monophosphate accumulation in GH pitu-

itary cells", Endocrinology, 113, pp. 1541-50, 1983) に記載の方法と同様であり、以下の変更を加えた。GH₄C₁ 細胞懸濁液 (1~2 \times 10⁵ 細胞/mL) のアリコート (50 μ L) を、Adenylyl Cyclase Activation Flash Plate (商標) アッセイプレート (NEN (商標) ライフサイエンスプロダクツ社から入手; カタログ SMP004A) 中の各試験化合物の溶液 (50 μ L) に加えた。推定されるソマトスタチンアゴニスト又はアンタゴニストを、10、1、及び 0.1 μ M の濃度で、100 nM バソアクティブインテスティナルペプチド (VIP; Sigma V3628) 及び 10 nM ソマトスタチン-14 (細胞培養試験したもの; Sigma S1763) の存在下で、典型的に試験した。cAMP に対する抗体で被覆され、そして前記プラスチックに不可欠なシンチラントを含有する前記 Flash Plate (商標) を、細胞調製物全体の cAMP 含有量を評価するために必要な全ての試薬 (刺激緩衝液、検出緩衝液、cAMP 標準、及び [¹²⁵I]-cAMP トレーサーを含む) を有するキットの一部として供給する。これにより、インシトゥで溶解した細胞中の cAMP 含有量の均質なイムノラジオメトリックアッセイを実施し、続いて試験化合物で前記細胞をインキュベーションする便利な方法が得られた。製造者の指示に従って、cAMP 濃度 10~1000 nM の標準と比較することによって、GH₄C₁ 細胞中の cAMP 含有量を決定した。このアッセイにおいて、VIP は、GH₄C₁ 細胞中の cAMP 含有量を増加させ、そしてソマトスタチンは、部分的阻害を起こした。ソマトスタチンアンタゴニストとして作用する試験化合物を、VIP 及びソマトスタチンを含有するが試験化合物を含まない対照ウエルと比べて cAMP 含有量を増加させるそれらの傾向によって検出した。逆に、ソマトスタチンアゴニストは、cAMP 含有量を減少させた。従って、好ましいプロトコルの詳細な説明は、以下のとおりである。

【0104】《材料及び方法》

(a) ダルベッコのリン酸緩衝塩水 (Gibco BRL #14040-141; PBS), 0.1% (w/v) BSA (Boehringer Mannheim #100-351) を含む (pH 7.4);

(b) F-10 栄養培地 (Gibco BRL #11550-043), 2.5% ウシ胎児血清 (熱不活化; Gemini Bio Products #100-107)、ウマ血清 (熱不活化; Gibco BRL #26050-088)、ペニシリン及びストレプトマイシン (100 単位/mL; 100 μ g/mL; Gibco BRL #15140-122);

(c) 細胞分離溶液 (Sigma #C5789); 及び

(d) Adenylyl Cyclase Activation Flash Plate Assay (NE

N# SMP004A)、アデニル酸シクラーゼ刺激後の細胞調製物全体中の cAMP/cAMP レベルを評価するために必要な全ての試薬を含むコンパニオンキット:

- A. 刺激緩衝液
- B. 検出緩衝液
- C. cAMP 標準
- D. フラッシュプレート
- E. [125 I] - cAMP トレーサー;

ペプチド: ソマトスタチン-14 [細胞培養試験したものの (Sigma # S1763), 脱イオン水中の 1 mM 水溶液を調製, アリコートをして 20℃で貯蔵]; パソアクティブインテスティナルペプチド (VIP; Sigma # V3628): PBS/BSA 中 200 μ M ストック溶液を調製 (-20℃で貯蔵), PBS/BSA 中 200 nM 実験用溶液を調製;

化合物希釈物 (レセプターアンタゴニストに対する試験に最適化): PBS/BSA 中の 20 nM-SRIF 及び 20 nM-VIP を調製。

【0105】《cAMP 標準》脱イオン水 (2 mL) で cAMP 標準 (5 nmol/mL; 250 pmol/50 μ L; 4℃で3週間より短い期間貯蔵) を戻し; そして刺激緩衝液で前記ストック溶液を適切に希釈することによって、1000、500、250、100、50、25、及び 10 pmol/mL 溶液を調製する。

【0106】《検出混合物》2uCi (測定日) の cAMP- [125 I] トレーサーを、各フラッシュプレートに対する検出緩衝液 1 mL に加える。測定日より後に前記トレーサーを使用する場合には、放射性崩壊に関して評価するために添加するトレーサーの体積を調整する。

【0107】《装置》

タイタープレート振動器; Lab Line Instruments

マイクロプレートシンチレーション計数計; Wallac microbeta, model 1450

【0108】《手順》

(A) 細胞調製

付着した GH₄C₁ 細胞を、175 mL フラスコ中で、約 75% 集密に生長させる。細胞を PBS で洗浄し、そして細胞分離溶液 (前出) 2.5 mL を用いて収集する。細胞を刺激緩衝液中に再懸濁し、そして血球計数器を用いて手で数えることによって、細胞の数を決定する。その細胞懸濁液を刺激緩衝液 (前出) で希釈することによって、細胞濃度を $1 \sim 2 \times 10^6$ 細胞/mL に調整する。

(B) 試験化合物の調製

化合物を適切な体積の 100% DMSO 中に溶解して、保存濃度である 10 mM (4℃の貯蔵溶液) に調製する。典型的には、化合物を、10、1、及び 0.1 μ M で最初に評価する。これらの濃度を得るために、化合物

希釈物において 2 倍濃度液 (すなわち、20、2、及び 0.2 μ M) を調製する。

【0109】(C) アッセイ手順

(1) cAMP 標準曲線

PBS/BSA 50 μ L を、フラッシュプレートの連続する 16 個のウェルに移す。これらと同じウェルに、1000、500、250、100、50、25、及び 0 pmol/mL、並びに 5 nmol/mL の cAMP 溶液 50 μ L を 2 回ずつ移す。

(2) 以下の対照を含む: PBS/BSA 緩衝液 50 μ L を 3 回ずつ移して、無刺激 cAMP 蓄積対照を製造する; 200 nM-VIP 50 μ L を移して、最大被刺激 cAMP 蓄積対照を製造する; 及び化合物希釈物 50 μ L を移して、部分的 SRIF-阻害 cAMP 蓄積対照を製造する。

(3) フラッシュプレート中のウェルに、各試験溶液 50 μ L を 3 回ずつ移す。

(4) 前記フラッシュプレートの cAMP 標準を含むウェルを除く各ウェルに細胞懸濁液 50 μ L を添加することによって、アッセイを開始する。前記フラッシュプレートを被覆し、そして回転プラットフォーム (200 rpm) 上で攪拌しながら、37℃で 20 分間インキュベートする。

(5) インキュベーターからフラッシュプレートを取り出し、そして全てのウェルに検出緩衝液 100 μ L を加える。

(6) 前記フラッシュプレート上にプレートカバーを置き、そして室温で 16~24 時間インキュベートする。

(7) インキュベーション後に、マイクロプレートシンチレーション計数計中で 125 I を計数する。

【0110】

【実施例 9】《12 kg のブタ内の GH 放出におけるソマトスタチンアンタゴニストの効果》この実験は、ソマトスタチンアンタゴニスト投与から 10 分以内に、小型ブタ内で GH 濃度が増加し、次に、投与後の 40 分以内に治療前のレベルに戻ることを示す。以下のプロトコルは、内因性ブタ GH (又は、pST: ブタソマトスタチン) の放出における、種々の投与量のソマトスタチンアンタゴニストの効果を記載する。去勢ブタ (去勢した雄ブタ) 内の血しょう GH 濃度における化合物の効果を評価するのに用いる方法は、M. J. Estienne ら, "Methyl-D, L-aspartate-induced growth hormone secretion in barrows: possible mechanisms of action", Journal of Animal Science, 74, pp. 597-602, 1996 に報告されている方法と同様の方法であり、以下の変更を加えたものであった。体重約 12 kg の雑種の去勢ブタ 40 匹を、36 平方フィートの囲い 1 個につき 10 匹ずつ (実験 1 回につき 4 匹) で、飼料 (PS-9 ブタ・スターター・ダイエット) 及び水に自由に到達できる状態で、2 日間馴化した。均一性を増すために、最小若しくは最大である

こと又は健康に関する理由に基づいて、各囲い毎に2匹を除去して、群の大きさを8匹／治療にした。各囲い中の同数のブタに、4種の治療の中の1種（すなわち、試験化合物投与量3種又は希釈剤のみの内の一つ）の治療を無作為に受けさせた。頸静脈静脈穿刺を介して、ヘパリン処理した排気済みの7mLチューブ中に最初の血液サンプルを収集した約1分後に、ブタ1頭につき滅菌塩水約1mLに希釈した化合物を、筋肉内注射によって後ろ足（腿の裏側）に投与した。同様に、10分間隔で、試験化合物又は希釈剤の注射から40分後まで血液サンプルを収集した。遠心分離によって血しょうを分離し、そして-20℃で冷凍した。

【0111】従って、好ましいプロトコルの詳細な説明は以下のとおりである。

《実験動物》

治療	1分前採血後の筋肉内注射	ブタ
T1	ベヒクル注射対照	8
T2	2.5mg/kg	8
T3	0.25mg/kg	8
T4	0.025mg/kg	8

【0114】《手順》第1日目に、馴化用に去勢ブタを囲いに入れ、耳タグを付け、そして体重を記録した。1日1回全般的な健康状態を観察することになる。それぞれの囲いの中の動物2匹を除外する。除外基準は、健康状態の悪化が観察されること、又は体重が最大若しくは最小であることを含む。各囲い中の同数が、それぞれの治療を受けることを制限として、ブタに、任意に治療を割り当てる。試験化合物を、前記動物内で標的濃度を達成するために適した濃度に（合理的なデリバリー体積となるように）滅菌塩水で希釈する。注射体積（T2～T4）は、試験化合物（動物T2～T4に対する）又は希釈剤（動物T1に対する）の適当な投与量を提供するために変化することになり、そして1分前（-1分の時点）の血液サンプル収集の直後に、1mL注射筒に取り付けた長さ1インチの20ゲージ針によって投与されることになる。T1に注射する希釈剤の体積は、約1m

（行動予定）

日	時間（分）	行動
-2		動物到着、耳タグ付け、体重記録
0	-1	血液サンプル収集、化合物又は希釈剤を筋肉内（後ろ足）投与
0	10	血液サンプル収集
0	20	血液サンプル収集
0	30	血液サンプル収集
0	40	血液サンプル収集

【0118】

【実施例10】《結晶中のGHレベルを決定するためのRIA手順》本アッセイは、血しょうサンプル中のGH（例えば、ブタGH又はイヌGH）のレベルを決定するのに使用する。血しょうサンプル中のブタGHを決定するために使用した二重の抗体ラジオイムノアッセイ（R

- a. 系統／株：雑種ブタ
- b. 初期体重：約12kg
- c. 性別：去勢雄
- d. 起源：Swinford／Frantz Farm, Hillsdale, インディアナ州
- e. 固体の区別：耳タグ
- 【0112】《管理》
- a. 給飼及び給水方法：自由
- b. 収容条件：サーモスタットで制御した暖房
- c. 飼料：PS-9, ブタ・スターター・ダイエット
- d. 囲い：36平方フィートの囲いそれぞれに、ブタ10匹

【0113】《試験材料》

【表4】

Lになる。注射部位は、後ろ足（腿の裏側）になる。

【0115】試験化合物又は希釈剤の注射に関して-1、10、20、30、及び40分の時点で、ヘパリン処理した排気済みの7mLチューブを用いて血液サンプルを収集する。遠心分離によって血しょうを分離して、そして冷凍（-20℃）する。競合的ラジオイムノアッセイによって、pSTの濃度を決定する。

【0116】《観察／計測》

- (1) 毎日の観察記録；
- (2) 2日前の体重；
- (3) 投与量の記録；
- (4) 血液サンプル収集記録（収集時に観察された詳細な健康状態、及び実験室アッセイ結果を含む）

【0117】

IA) は、Y.N.Sinhaら, "Studies of GH secretion in mice by a homologous radioimmunoassay for mouse GH", Endocrinology, 91, pp. 784-92, 1972に記載の方法、及びF.Cocolaら, "A rapid radioimmunoassay method of growth hormone in dog plasma", Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine, 15

1, pp. 140-14, 1976に記載の方法と同様の方法である。変更は、以下のとおりである。トレーサーとして生(native)のプタGH(pGH)を放射性ヨウ素化し、標準としてイヌGH(cGH; AFP-1983B; イヌGH及びプタGHのアミノ酸配列は同じである)を使用し、そして第一抗体(サル抗-cGH; AFP-21452)を、A. F. Parlow (Harbor UCLA Medical center) によって供給した。あるいは、Biogenesisの組換えプタGHを、トレーサーとして、放射性ヨウ素化に用いた。放射性ヨウ素化は、Biomedical Technologies Inc. Stoughton, MAによって実施された。第一抗体(最終希釈=1:50,000又は1:100,000)、健常サル血清(ICN55988; 最終希釈=1:1,000)、及び血しょうサンプル又は標準(cGH/チューブ=0.08~2.5ng)を混合し、そして周囲温度で2時間インキュベートし、次に、トレーサー(10,000cpm/チューブ)を加え、そして合計体積500μLで、周囲温度で更に20時間インキュベーションを続けた。第二抗体(ヤギ抗-サルIgG ICN55418; 最終希釈=1:160)及びポリエチレングリコール8,000(最終濃度44mg/mL)を加え、そして最終体積1.6mLで混合した。チューブを、振盪しながら4℃で2時間インキュベートし、次に、それらを遠心分離し、上清を捨て、そしてペレットのガンマ放射を決定した。

【0119】従って、好ましいプロトコルの詳細な説明は以下のとおりである。

《材料》

リン酸ナトリウム(一塩基性)

リン酸ナトリウム(二塩基性)

脱イオン(DI)水

テトラナトリウムエチレンジアミンテトラ酢酸(EDTA Na₄)

ウシ血清アルブミン(BSA)

塩化ナトリウム(NaCl)

健常サル血清(NMS): ICN#55988(1瓶=血清2mL)

ポリエチレングリコール(分子量8,000)(PEG): Sigma#P2263

イヌ成長ホルモンに対する抗血清(サル)(1°Ab), Dr. A. F. Parlow, Harbor UCLA Med centerから贈呈(#AFP-21452)

ヤギ抗-サルIgG(2°Ab); ICN#55418
ヨウ化用pGH: Dr. A. F. Parlow又はBiogenesis(BTIにおけるRon Forandによってヨウ素化を実施)

ヨウ化用cGH: Dr. A. F. Parlow (Ron 50

Forandによってヨウ素化, BTI)

参照標準cGH: Dr. A. F. Parlow#AFP-1983B

【0120】《溶液調製》

(1) 0.5Mリン酸ナトリウム(pH7.4): 0.5M一塩基性溶液1リットルを製造する(水1L中に一塩基性リン酸ナトリウム68.99g)。0.5M二塩基性溶液1リットルを製造する(水1L中に二塩基性リン酸ナトリウム70.98g)。pH7.4となるまで、前記二塩基性溶液に前記一塩基性溶液を加える。室温で貯蔵する。

(2) 0.5M-EDTA(pH7.5)

EDTA・Na₄113gを脱イオン水500mL中に溶解する。攪拌して溶解させる。酢酸でpHを7.5に調整する。冷却する。

(3) RIA緩衝液: 0.5%BSA; 0.1Mリン酸ナトリウム(pH7.4); 0.1M-NaCl; 25mM-EDTA・Na₄; pH7.5

1リットルフラスコ中のBSA5g、0.5Mリン酸ナトリウム200mL(pH7.4)、NaCl5.84g、及び0.5M-EDTA50mLに脱イオン水を加えて1リットルにする。室温で貯蔵する。

(4) NMS(0.5%)

1瓶のNMSにRIA緩衝液2mLを加える。更にRIA緩衝液398mLを加えることによって、前記NMS溶液を最終濃度0.5%に希釈する。40mLアリコートで-70℃で貯蔵する。

(5) 7%PEG(分子量: 8,000)

0.05Mリン酸ナトリウム(pH7.0)1000mL(0.5Mリン酸ナトリウム100mL+水900mL)に、PEG70gを溶解する。

(6) 1°抗体

ストック#1(1:100): オリジナルの瓶に脱イオン水0.8mLを加える。50μLのアリコートで、-70℃で冷凍する。

ストック#2(1:500): スtock#1のチューブの1つを、RIA緩衝液(200μLを加える)で1:5に希釈する。

全ての1°Abの新規ロットで、阻害%に基づいて、ストック#2の最終希釈(1°Ab)を決定する(通常、ストック#2を更に1:100~1:200希釈する)。

(7) 2°抗体

1瓶の含有量をRIA緩衝液で2mLにする。RIA緩衝液で1:10に希釈する(合計体積20mL)。-70℃で貯蔵し、後に再形成する。

【0121】《RIA手順》

〈第1日目〉

(1) 標識チューブ(標準で3個ずつ、サンプルで2個ずつ)

1～4：合計計算用
 5～9：非特異的結合用
 10～12：対照（空白）用
 13～15：標準1（0.08 ng/チューブ）
 16～18：標準2（0.16 ng/チューブ）
 19～21：標準3（0.32 ng/チューブ）
 22～24：標準4（0.64 ng/チューブ）
 25～27：標準5（1.25 ng/チューブ）
 28～30：標準6（2.5 ng/チューブ）
 31以上：サンプル（2個ずつ）及び対照血しょう（L 10
 ampireからのプール血しょう）
 サンプルについて計算した濃度が、ng/チューブとし
 て最初に報告されている。数値は、ng/mL濃度に対
 して10倍して、そしてこの形式（チューブ1本当たり
 のサンプル体積100μLに基づく）で報告する。
 【0122】（2）標準調製
 （A）1瓶のcGH標準（5μg）（Parlow）を
 水1mL中に溶解する。
 （B）200μLアリコートで、-70℃で貯蔵する。
 （C）200μLアリコート1個を取り出し、そして2 20
 0μLアリコート（-70℃）に分ける。標準調製に2
 0μLアリコート1個を使用する。
 標準6：RIA緩衝液990μL中cGH標準10μL
 （5μg/mL）
 標準5：標準6（500μL）+RIA緩衝液500μ
 L
 標準4：標準5（500μL）+RIA緩衝液500μ
 L
 標準3：標準4（500μL）+RIA緩衝液500μ
 L
 標準2：標準3（500μL）+RIA緩衝液500μ
 L
 標準1：標準2（500μL）+RIA緩衝液500μ
 L
 （3）解凍NMS（1°Ab及びサンプル）
 （4）RIA緩衝液を以下の量で加える：
 チューブ5～12：300μL
 チューブ13～30：250μL
 チューブ31～？：200μL
 （5）相当するチューブに標準溶液50μLを添加す
 る。相当するチューブにサンプル100μLを添加す
 る。
 （6）チューブ5～9にNMS100μLを添加する。
 （7）チューブを撹拌させる。
 （8）1°イヌ抗体（ストック#2の最終希釈物）10
 0μLを、チューブ10並びにそれ以降のチューブに加
 える（希釈は、NMSで実施する）。
 （9）室温で2時間振盪する。
 （10）トレーサーの調製：1：50希釈の出発トレー
 サーを製造する。トレーサーの全ての新規ロットについ 50

て1：50希釈を滴定して、何μLの1：50溶液（～
 10,000cpm）を提供するかを決定する。次に、
 その量の1：50を、チューブ毎に使用する。チューブ
 毎に選択した1：50体積を、RIA緩衝液で合計10
 0μL（チューブ当たり）にすることによって作業溶液
 を調製する。すなわち、1：50は、出発トレーサー6
 4μL+RIA緩衝液3136μL（混合物）であり；
 作業溶液は、1：50溶液3120μL+RIA緩衝液
 48880μL（混合物）である。
 （11）前記チューブ全てに作業溶液100μLを加え
 る。ブタサンプルに対してブタトレーサーを使用する。
 イヌサンプルに対してイヌトレーサーを使用する。
 （12）チューブを撹拌させる。
 （13）室温で20時間チューブを振盪する。
 【0123】〈第2日目〉
 （14）チューブ5及びそれ以降のチューブに、2°A
 b100μLを加える。
 （15）チューブ5及びそれ以降のチューブに、PEG
 溶液1mLを加える。
 （16）チューブを撹拌させる。
 （17）4℃で2時間振盪する。
 （18）チューブ1～4を取り出し、そして残りのチュ
 ープを遠心分離（3000rpm, 4℃, 30分間）す
 る。
 （19）上清を捨てる。紙タオルが並んでいる容器中で
 5～10分間チューブを逆さにして排水する。
 （20）チューブ1～4を元に戻す。
 （21）3分間数え、対数-対数によって曲線を作成す
 る。数値はng/チューブであり、そしてそれをng/ 30
 mL濃度に10倍する。
 【0124】また、本発明の別の態様は以下のとおりで
 ある。
 [1] 請求項15に記載の医薬組成物を有効量で投与す
 ることを含む、哺乳動物における成長ホルモン分泌の増
 加方法。
 [2] 請求項16に記載の医薬組成物を有効量で投与す
 ることを含む、哺乳動物におけるガストリン又はグルカ
 ゴン分泌の増加方法。
 [3] 請求項17に記載の前記医薬組成物を有効量で投
 与することを含む、哺乳動物における成長ホルモン分泌
 のソマトスタチン誘発ダウンレギュレーションの減少方
 法。
 【0125】[4] 請求項21に記載の医薬組成物を有
 効量で投与することを含む、（a）（1）成長ホルモン
 をコードするヌクレオチド配列の発現、（2）得られる
 mRNAのプロセッシング、又は（3）GH若しくはその
 前駆体ポリペプチドの転写若しくは細胞内プロセッシ
 グ、及びパッケージングにおける欠損；あるいは（b）
 活性が不十分な成長ホルモンポリペプチドをコードする
 成長ホルモン遺伝子の対立遺伝子；を有し、成長ホルモ

及び能力増進用の前記哺乳動物の治療方法。

〔7〕請求項19に記載の医薬組成物を有効量で投与することを含む、哺乳動物における成長ホルモン分泌の増加方法。

〔８〕請求項１５に記載の医薬組成物及び成長ホルモン放出ペプチド（GHRP）又は成長ホルモン放出ホルモン（GHRH）を含む更なる医薬組成物を有効量で投与することを含む、哺乳動物における成長ホルモン分泌の増加方法。

フロントページの続き

(51) Int. Cl. ⁷	識別記号	F I	テーマコード' (参考)
A 6 1 P	5/06	A 6 1 P	43/00
	5/48		1 1 1
	43/00	C 0 7 D	401/12
C 0 7 D	401/12	C 0 7 K	5/078
C 0 7 K	5/078	A 6 1 K	37/02
			37/36

(72)発明者	ブリジット マッカーシー コール	(72)発明者	アンソニー ポール リケッツ
	アメリカ合衆国 06340 コネチカット州		アメリカ合衆国 06340 コネチカット州
	グロトン市 イースタン・ポイント・ロ		グロトン市 イースタン・ポイント・ロ
	ード (番地なし) ファイザー・セント		ード (番地なし) ファイザー・セント
	ラル・リサーチ内		ラル・リサーチ内